

ВПЛИВ КОМПЛЕКСУ ПРИРОДНИХ МЕТАБОЛІТІВ-АНТИОКСИДАНТІВ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПОЛІОЛОВОГО ШЛЯХУ В СІТКІВЦІ ДІАБЕТИЧНИХ ЩУРІВ

Ю.А. Дьомін, С.Е. Лекішвілі

Харківська медична академія післядипломної освіти

Вступ

Діабетична ретинопатія є найбільш поширеною причиною виникнення сліпоти у осіб працездатного віку та найчастішим проявом діабетичних мікросудинних ускладнень. [1]. Етіологія діабетичних ускладнень залишається не до кінця з'ясованою, проте не викликає сумнівів той факт, що розвиток судинних уражень залежить від тривалості захворювання та якості глікемічного контролю [2]. Гіперглікемія, ймовірно, ушкоджує тканини, викликаючи як гострі (оборотні), так і кумулятивні (необоротні) зміни в стабільних макромолекулах. До оборотних порушень відносяться: посилений метаболізм глюкози за поліоловим шляхом, зміна редокс-стану піридинових нуклеотидів, оксидативний стрес, зниження концентрації міоїнозиту в окремих субклітинних пулах, підвищення де novo синтезу діацилгліцеролу, активація протеїнази С і формування продуктів раннього глікозилювання на білках матриксу, клітин та плазми [3].

Поліоловий шлях перетворення глюкози - це двохкроковий метаболічний шлях, у якому глюкоза відновлюється до сорбітолу з наступним утворенням фруктози. Оскільки сорбітол є полігідроксильованим та гідрофільним спиртом, він повільно дифундує скрізь мембрани та акумулюється в клітинах, викликаючи осмотичні ушкодження, зокрема такі, які спостерігаються в кристалику за умов діабетичної катаракти [4]. Ще одним наслідком інтенсифікації поліолового шляху можна назвати зниження концентрації внутрішньоклітинного міоїнозитола, що знаходиться в стані реципрокного балансу із сорбі-

толом, накопичення якого спричиняє падіння рівня міоїнозитола. Крім того, цей процес підсилюється в результаті конкурентного пригнічення глюкозою внутрішньоклітинного надходження міоїнозитола, що спостерігається в сітківці [5].

Останнім часом проводяться активні пошуки нових фармакологічних засобів, які здатні гальмувати провідні патогенетичні ланки розвитку та прогресування діабетичної ретинопатії. Перспективними натеper є дослідження терапевтичного впливу таурину - напівнезамінної для людини вільної амінокислоти, яка верифікується у високій мілімолярній концентрації в різних тканинах та грає фундаментальну роль у розвитку й нормальному функціонуванні сітківки [6]. Так, показано, що таурин регулює концентрацію кальцію, осмотичний тиск, виконує захисні (антиоксидантні), імуномодулюючі, сигнальні, протеїн- та мембраностабілізуючі функції у клітинах сітківки та у кристалику ока, має антиапоптотичні та нейропротекторні властивості [7]. Результати експериментальних і клінічних досліджень також свідчать про гальмуючий вплив вітаміну С відносно проявів ретинальної мікроангіопатії [8].

Метою дослідження була оцінка профілактичного впливу комплексу природних метаболітів-антиоксидантів - таурину та вітаміну С на інтенсивність поліолового шляху перетворення глюкози в сітківці ока щурів із високодозовим стрептозотоциновим діабетом.

Матеріали та методи дослідження

Експеримент проведено на 30 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар вагою 180-200 г. Високодозовий стрептозотоциновий діабет (ВСД) моделювали шляхом одноразового введення стрептозотоцину ("Sigma", США, 70 мг/кг маси тіла, в/ч), який викликає гострий некроз бета-клітин; виразна гіперглікемія спостерігалася через 24-72 години і зберігалася протягом тривалого часу. За гормонально-метаболічними змінами ВСД багато в чому подібний до ЦД 1 типу у людини, але без участі аутоімунних механізмів деструкції. Дослідження проводилися відповідно до національних "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних

тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985). Після відтворення діабету щури отримували щоденно перорально протягом 6 тижнів комплекс природних антиоксидантів - таурину (300 мг/ кг маси тіла) та вітаміну С (200 мг/кг маси тіла) або плацебо. Оцінку глюкозного гомеостазу проводили за рівнем базальної глікемії. Вміст глюкози в крові хвостової вени визначали глюкозооксидазним методом. Після знеживлення тварин методом транслокації шийних хребців швидко видаляли сітківки та гомогенізували їх у 3 мл фосфатного буферу, 0,1 моль/л, рН 6,5. Вміст сорбітолу у гомогенатах сітківки експериментальних тварин після депротейнізації (за допомогою 0,3 М сульфату цинку та гідроксиду барію) визначали спектрофотометрично з використанням 0,8 Од сорбітол дегідрогенази та 0,5 мМ НАД⁺ у 0,1 М гліциновому буфері (рН 9,5) [9].

Порівняння двох груп з нормальним розподілом здійснювали із застосуванням параметричного t-критерію Ст'юдента для незалежних відбірок, при порівнянні двох груп з розподілом, відмінним від нормального, використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні. Розходження вважали статистично значущим при (P<0,05).

Отримані результати та їх обговорення

Відомо, що окрім оксидативного стресу у патогенез специфічних діабетичних ускладнень залучено також підвищену активність поліолового шляху, а саме, збільшену активність процесів, які забезпечено роботою двох ферментів цього метаболічного шляху перетворення глюкози - альдозоредуктазою та сорбітол дегідрогеназою.

Робота першого, швидкість-лімітуючого ферменту, призводить до відновлення глюкози та утворення сорбітолу, надлишок якого здатний порушувати осмотичний та електролітний баланс у тканинах, що, в свою чергу, викликає регуляторні зсуви, гідратацію клітин та uszkodження клітинних мембран. Ці процеси активуються у тканинах, до яких глюкоза потрапляє за градієнтом концентрації, тобто, у інсулін-незалежних тканинах, до яких належать, у тому числі, сітківка та кришта-

лик ока. В той же час, альдозоредуктаза виконує і захисні функції, а саме, відновлює та інактивує токсичні продукти ліпідної пероксидації - в першу чергу, глутатіонові кон'югати ненасичених альдегідів. Однак, її інтенсивна робота здатна виснажувати відновлюючи еквіваленти (такі, як НАДФН), необхідні для інших життєво-важливих метаболічних процесів у клітині [10].

У зв'язку з патогенетичною роллю підвищеної активності поліолового шляху перетворення глюкози та накопичення його продуктів у тканинах за умов хронічної гіперглікемії, являло інтерес визначення впливу вітаміну С та таурину на вміст сорбітолу у гомогенатах сітківки діабетичних тварин.

В результаті проведених досліджень було показано, що введення стрептозоточину спричиняє виразне підвищення базальної глікемії (15,79±0,42 проти 4,18±0,15 моль/л у контролі, P<0,001), що є характерним для розвитку абсолютної інсулінової недостатності. В той же час, застосування досліджуваних сполук частково гальмувало ступінь гіперглікемії (8,27±0,25 ммоль/л, P<0,01), що може свідчити про їх протективний вплив відносно деструктивних процесів в острівцевому апараті підшлункової залози.

Встановлено, що 6-тижневе моделювання цукрового діабету призводить до виразного накопичення сорбітолу у сітківці ока щурів, які отримували плацебо (рис.).

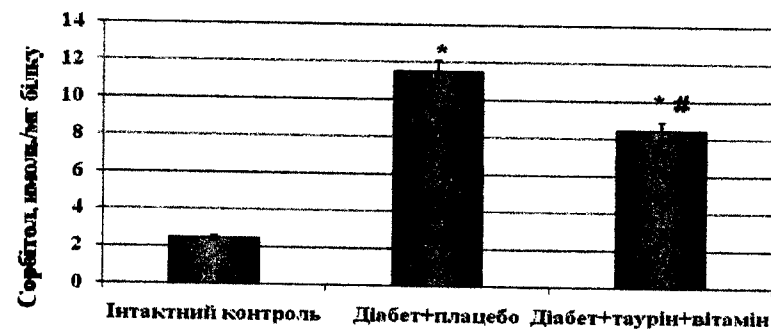


Рис. Вплив таурину та вітаміну С на вміст сорбітолу в гомогенатах сітківки ока щурів із стрептозоточинним діабетом, n=10, ($\bar{x} \pm S_x$); * - P<0,001 відносно показника групи "Інтактний контроль"; # - P<0,05 відносно показника групи "Діабет+плацебо".

Введення діабетичним тваринам комплексу метаболітів-антиоксидантів достовірно знижувало цей показник, але не відновлювало його до рівня інтактних тварин, що, можливо, пояснюється непрямим впливом використаних речовин. Терапевтичний ефект останніх може бути опосередкований, перш за все, зниженням глікемічного дисбалансу, а також нормалізацією регуляторних внутрішньоклітинних механізмів та конкурентним відволіканням альдозоредуктази на інактивацию глутатіонових кон'югатів продуктів ліпідної пероксидації за даних умов.

Таким чином, сумісне використання антиоксидантів-метаболітів, таурину та вітаміну С, у щурів із високодозовим стрептозоточиновим діабетом гальмує накопичення сорбітолу у сітківці ока, що може свідчити про зниження активності поліолового шляху перетворення глюкози та ослаблення ризику розвитку ішемічної ретинопатії.

Висновки

1. Пероральне застосування антиоксидантного комплексу (таурин+вітамін С) протягом 6 тижнів сприяє поліпшенню глікемічного контролю та гальмує накопичення сорбітолу у сітківці ока діабетичних тварин.

2. Отримані результати обґрунтовують перспективність використання вищезазначених антиоксидантів для профілактики та ослаблення проявів діабетичної ретинопатії.

Література

1. *Diabetic retinopathy* / D. S. Fong, L. Aiello, T.W. Gardner [et al.] // *Diabetes Care*. - 2003. - Vol. 26. - P. 226-229.
2. *Aronson, D. Hyperglycemia and the pathobiology of diabetic complications* / D. Aronson // *Adv. Cardiol.* - 2008. - Vol. 45. - P. 1-16.
3. *Khan Z. A. Cellular signalling and potential new treatment targets in diabetic retinopathy* / Z. A. Khan, S. Chakrabarti // *Exp. Diab. Res.* - 2007. - Vol. 2007, Article ID 31867. - 12 p.
4. *Lorenzi M. The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive, and resilient* // *Exp. Diab. Res.* - 2007. - Vol. 2007, Article ID 61038. - 10 p.

5. *A role for the polyol pathway in the early neuroretinal apoptosis and glial changes induced by diabetes in the rat* / V. Asnaghi, C. Gerhardinger, T. Hoehn [et al.] // *Diabetes*. - 2003. - Vol. 52. - P. 506-511.

6. *Militante J. D. Taurine: evidence of physiological function in the retina* / J. D. Militante, J. B. Lombardini // *Nutr. Neurosci.* - 2002. - Vol. 5. - P. 75-90.

7. *Dietary taurine supplementation prevents glial alterations in retina of diabetic rats* / K. Zeng, Z. Xu, M. Mi [et al.] // *Neurochem. Res.* - 2009. - Vol. 34. - P. 244-254.

8. *Long-term effects of oral vitamin C supplementation on the endothelial dysfunction in the iris microvessels of diabetic rats* / A. Jariyapongskul, T. Rungjaroen, N. Kasetsuwan [et al.] // *Microvasc Res.* - 2007. - Vol. 74. - P. 32-38.

9. *Bouckenooghe T. Is taurine a functional nutrient?* / T. Bouckenooghe, C. Remacle, B. Reusens // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* - 2006. - Vol. 9. - P. 728-733.

10. *Obrosova I. G. Effect of dietary taurine supplementation on GSH and NAD(P)-redox status, lipid peroxidation, and energy metabolism in diabetic precataractous lens* / I. G. Obrosova, M. J. Stevens // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* - 1999. - Vol. 40. - P. 680-688.

11. *Srivastava S. K. Role of aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic options* / S. K. Srivastava, K. V. Ramana, A. Bhatnagar // *Endocrine Reviews* - 2005. - Vol. 26. - P. 380-392.

Резюме

Дьомін Ю.А., Лекішвілі С.Е., Гончарова Н.А. Вплив комплексу природних метаболітів-антиоксидантів на інтенсивність поліолового шляху в сітківці діабетичних щурів.

Досліджено профілактичний вплив комплексу природних метаболітів-антиоксидантів - таурину та вітаміну С на інтенсивність поліолового шляху перетворення глюкози в сітківці ока діабетичних щурів. Діабет індукували внутрішньочеревним введенням стрептозоточину (70 мг/кг маси тіла). Діабетичні тварини отримували перорально таурин (300 мг/кг маси тіла) у комбінації з вітаміном С (200 мг/кг маси тіла) або плацебо протягом 6 тижнів після індукції діабету. Встановлено, що застосування антиоксидантного комплексу сприяє поліпшенню глікем-

ічного контролю та гальмує накопичення сорбітолу у сітківці ока діабетичних тварин. Отримані результати обґрунтовують перспективність використання вищезазначених антиоксидантів для профілактики та ослаблення проявів діабетичної ретинопатії.

Ключові слова: ретинопатія, стрептозотоциновий діабет, сорбітол, таурин, вітамін С.

Резюме

Демин Ю.А., Лекишвили С.Е., Гончарова Н.А. *Влияние комплекса природных метаболитов-антиоксидантов на интенсивность полиолового пути в сетчатке диабетических крыс.*

Исследовано профилактическое влияние комплекса природных метаболитов-антиоксидантов - таурина и витамина С на интенсивность полиолового пути превращения глюкозы в сетчатке глаза диабетических крыс. Диабет индуцировали внутрибрюшинным введением стрептозоточина (70 мг/кг массы тела). Диабетические животные получали перорально таурин (300 мг/кг массы тела) в комбинации с витамином С (200 мг/кг массы тела) или плацебо в течение 6 недель после индукции диабета. Установлено, что применение антиоксидантного комплекса способствует улучшению гликемического контроля и тормозит накопление сорбитола в сетчатке глаза диабетических животных. Полученные результаты обосновывают перспективность использования данных антиоксидантов для профилактики и ослабления проявлений диабетической ретинопатии.

Ключевые слова: ретинопатия, стрептозотоциновый диабет, сорбитол, таурин, витамин С.

Summary

Demin Yu.A., Lekishvili S.E., Goncharova N.A. *Effect of natural metabolites-antioxidants on the polyol pathway intensity in retina of diabetic rats.*

We studied the preventive effect of natural metabolites-antioxidant complex consisted of taurine and vitamin C on the polyol pathway intensity in retina of diabetic rats. Diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (70 mg/kg b. wt.). Diabetic rats were treated with taurine (300 mg/kg b. wt.) and vitamin C (200 mg/kg b.wt.) or placebo during 6 weeks. It was revealed, that supplementation with antioxidant complex improved glycaemic control and decreased sorbitol content in retina of diabetic rats. Our results suggest the potentiality of the complex as a novel agent for the prevention and treatment of diabetic retinopathy.

Key words: retinopathy, streptozotocin-induced diabetes, sorbitol, taurine, vitamin C.

Рецензент: д.мед.н., проф.А.М.Петруня

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ГЛИЦИНА И ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КАТАРАКТАЛЬНЫХ ХРУСТАЛИКАХ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Н. Ф. Леус, Бен Абдаллах Анис

ГУ "Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова" НАМН Украины

Введение

Проблема катарактогенеза и поиска действенных методов профилактики и лечения помутнения хрусталика является одной из актуальных проблем современной офтальмологии [7,9]. Особую значимость в этом отношении представляют случаи возникновения катаракты у больных сахарным диабетом.

В развитии диабетической катаракты важная роль принадлежит сорбитному пути усвоения глюкозы хрусталиком. Сорбит же накапливается по мере длительности диабета при избытке глюкозы в ткани, сопровождаемом возрастанием активности альдозоредуктазы, катализирующей превращение глюкозы в сорбит, и снижением активности сорбитдегидрогеназы, окисляющей сорбит до фруктозы. Кроме того, углеводы, и прежде всего глюкоза и глюкозо-6-фосфат, способны к неэнзиматическому связыванию с белками в медленно развивающемся процессе гликозилирования [10,12]. Имеются данные, показывающие роль нарушений физиологического равновесия между процессами перекисного окисления липидов и активностью антиоксидантной системы в патогенезе возрастной катаракты [1]. Многими авторами отмечено, что одной из причин снижения активности защитных систем в хрусталике является недостаточное поступление в организм природных биоантиоксидантов и витаминов. В ряде исследований показано, что недостаточность в диете витаминов Е, С, D, А повышает риск образования катаракты. Выявлена также взаимосвязь между развитием катаракты и метаболическим обеспечением пиридоксином и витамином Е [8,11].

Ураження органу зору при цукровому діабеті