

Дослідження впливу діакамфу на оксидативний стрес за умов експериментального цукрового діабету та метаболічного синдрому

Т.В.Соколюк, Н.І.Горбенко, С.І.Мерзлікін, Д.Г.Подгайний

Національний фармацевтичний університет, Інститут проблем ендокринної патології
ім. В.Я.Данилевського, відділ фармакології і токсикології
Харків, Україна

У роботі редставлені результати дослідження антиоксидантних властивостей діакамфу на кролях за умов дитизонового діабету та щурах за умов індукованих фруктозою проявів метаболічного синдрому. Встановлено, що хронічне уведення експериментальним тваринам з гіперглікемією та інсулінорезистентністю діакамфу сприяє зниженню у них вираженості оксидативного стресу.

Ключові слова: цукровий діабет, метаболічний синдром, оксидативний стрес, діакамф, метформін.

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) та метаболічний синдром (МС) на сьогодні є об'єктами уваги багатьох фахівців-медиків: кардіологів, ендокринологів, терапевтів тощо. Це пов'язано з широкою поширеністю цих захворювань, багатокомпонентністю проявів і високою летальністю. Відомо, що МС належить ведуча роль у патогенезі ЦД та його ускладнень: ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда, захворювань периферичних судин та інсульту [15].

Основною метою фармакотерапії МС та ЦД є зниження інсулінорезистентності шляхом підвищення чутливості тканин до дії інсуліну, досягнення компенсації вуглеводного обміну, а також захист серцево-судинної системи.

Фармацевтичний ринок України сьогодні має гострий дефіцит оригінальних антидіабетичних лікарських засобів, які позитивно впливають на прояви МС. Відомий антидіабетичний препарат Метформін (Glucophage) у зв'язку з побічними діями має обмеження у за-

стосуванні, особливо у пацієнтів з печінковою недостатністю [18].

У Національному фармацевтичному університеті розроблено оригінальний антидіабетичний засіб Діакамф у таблетках по 0,250 г [4, 7, 8]. Його активною субстанцією є похідне дикарбонової кислоти – (±)-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонова кислота, що проявляє цукрознижуючу (без ризику розвитку гіпоглікемічних станів), гіполіпідемічну, репаративну, церебропротекторну дію, а також знижує інсулінорезистентність у поєднанні з низькою токсичністю [10].

Разом із тим ще не всі фармакологічні властивості діакамфу достатньо вивчені, у тому числі й антиоксидантні. Припускають, що антигіперглікемічний ефект відомих антиоксидантних препаратів реалізується через зниження інтенсивності вільнорадикального окислювання. З однієї сторони, це призводить до поліпшення дії інсуліну, а з іншого боку – підвищує в панкреатичних бета-клітинах співвідношення відновленого глутатіону до окисленого, що відіграє важливу роль у регуляції секреції інсуліну [17].

Оксидативний стрес, що визначають як дисбаланс між продукцією та утилізацією вільних радикалів, за умов діабету виникає в результаті аутоокислення глюкози, неферментативного глікозилювання, послаблення антиоксидантного захисту і посиленого потоку електронів через дихальний ланцюг внаслідок підвищеного внутрішньоклітинного метаболізму глюкози. На сьогодні його розглядають як універсальний механізм, що об'єднує основні біохімічні шляхи токсичного впливу гіперглікемії [13].

Метою даної роботи є дослідження впливу діакамфу на оксидативний стрес за умов експериментального ЦД та проявів МС.

ТАБЛИЦЯ 1

Вплив діакаμφ на вміст первинних продуктів ПОЛ в гомогенатах печінки щурів з проявами МС ($X \pm Sx$), $n=5$

Група тварин	Дієнові кон'югати, ммоль/г	Триєнові кон'югати, ммоль/г	Тетраєнові кон'югати, ммоль/г	Оксидієнові кон'югати, ммоль/г
Інтактний контроль	60,51±1,66	110,64±5,73	0,121±0,009	53,59±3,02
Фруктоза + плацебо	99,25±5,72 $P_1 < 0,001$	205,85±7,94 $P_1 < 0,001$	0,179±0,019 $P_1 < 0,05$	97,24±7,01 $P_1 < 0,001$
Фруктоза + метформін	56,35±5,31 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$	122,50±9,11 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$	0,138±0,015 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$	59,76±4,07 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,01$
Фруктоза + діакаμφ	54,87±2,64 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	90,24±6,45 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,05$	0,072±0,016 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,01$ $P_3 < 0,02$	40,75±3,90 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,01$

Примітки: P_1 – достовірність різниці у порівнянні з групою «інтактний контроль»; P_2 – достовірність різниці у порівнянні з групою «фруктоза + плацебо»; P_3 – достовірність різниці у порівнянні з групою «фруктоза + метформін».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на статовозрілих самцях щурів лінії Вістар та на самцях кролів породи Шиншила. Модель МС індукували шляхом хронічного уведення щурам фруктози (200 мг/л з питною водою протягом 6 тижнів) [14], а модель ЦД у кролів індукували внутрішньочеревинним уведенням дитизону в дозі 35 мг/кг маси тіла [16]. Метформін як препарат порівняння вводили тваринам перорально за допомогою зонду в дозі 50 мг/кг маси тіла у водному розчині, а діакаμφ – у дозі 25 мг/кг маси тіла у вигляді водної суспензії з Твіном-80 протягом 4 тижнів, починаючи з третього тижня експерименту. Контрольна група тварин одержувала плацебо – 3-5% тонкодисперсну водну емульсію Твіну-80 за аналогічною схемою [1].

Вираженість оксидативного стресу характеризували за показником малонового діальдегі-

ду (МДА), а також за рівнями дієнових, триєнових, тетраєнових і оксидієнових кон'югатів [3]. Стан антиоксидантної системи захисту оцінювали за вмістом відновленого глутатіону [12], активності каталази [6], концентрації церулоплазміну [5] і показниками загальної антиоксидантної активності [9] в гомогенатах печінки та сироватці експериментальних тварин.

Весь отриманий цифровий матеріал оброблено методами варіаційної статистики із застосуванням параметричних та непараметричних критеріїв [2, 11].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень було встановлено, що хронічне уведення щурам фруктози сприяє інтенсифікації процесів ліпідної пероксидації, на що вказує істотно підвищений рівень первинних продуктів пе-

ТАБЛИЦЯ 2

Вплив діакаμφ на рівень фруктозаміну в сироватці крові й активність антиоксидантної системи захисту в печінці щурів з проявами МС ($X \pm Sx$), $n=5$

Група тварин	Концентрація фруктозаміну, ммоль/л	Активність каталази, нмоль/г.хв.	Відновлений глутатіон, ммоль/г	Загальна антиоксидантна активність, %
Інтактний контроль	1,258±0,027	15,77±0,10	1,16±0,13	70,59±8,22
Фруктоза + плацебо	1,589±0,040 $P_1 < 0,001$	14,47±0,10 $P_1 < 0,001$	2,45±0,38 $P_1 < 0,02$	16,83±2,70 $P_1 < 0,001$
Фруктоза + метформін	1,360±0,037 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,01$	19,00±0,37 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	4,78±0,87 $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$	51,28±9,83 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$
Фруктоза + діакаμφ	1,420±0,055 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$ $P_3 > 0,05$	19,34±0,03 $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$ $P_3 < 0,001$	0,93±0,16 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,01$ $P_3 < 0,001$	56,67±2,59 $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$ $P_3 < 0,01$

Примітки: P_1 – достовірність різниці у порівнянні з групою «інтактний контроль»; P_2 – достовірність різниці у порівнянні з групою «фруктоза + плацебо»; P_3 – достовірність різниці у порівнянні з групою «фруктоза + метформін».

ТАБЛИЦЯ 3

Показники інтенсивності ПОЛ в гомогенаті печінки кролів із дитизоновим діабетом, які отримували діакаμφ протягом 2 місяців ($X \pm S_x$), n=5

Група тварин	МДА, мкмоль/Г	Дієнові кон'югати, ммоль/Г	Триєнові кон'югати, ммоль/Г	Оксидієнові кон'югати, ммоль/Г
Інтактний контроль	75,2±3,2	43,9±5,1	97,4±1,2	56,8±2,8
Діабет + плацебо	121,3±4,4 P ₁ <0,001	80,8±7,4 P ₁ <0,01	162,7±11,3 P ₁ <0,01	82,9±5,2 P ₁ <0,05
Діабет + метформін	109,6±5,5 P ₁ <0,001 P ₂ >0,05	35,9±4,0 P ₁ >0,05 P ₂ <0,001	94,6±19,1 P ₁ >0,05 P ₂ <0,05	50,4±8,4 P ₁ >0,05 P ₂ <0,02
Діабет + діакаμφ	99,7±4,7 P ₁ <0,02 P ₂ <0,01 P ₃ >0,05	70,1±7,4 P ₁ <0,02 P ₂ >0,05 P ₃ <0,01	133,6±5,1 P ₁ <0,05 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05	67,7±2,5 P ₁ <0,05 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05

Примітки: P₁ – достовірність різниці у порівнянні з групою «інтактний контроль»; P₂ – вірогідність змін порівняно з групою «діабет + плацебо»; P₃ – вірогідність змін порівняно з групою «діабет + метформін».

рекисного окислення ліпідів (ПОЛ) – дієнових, триєнових та оксидієнових кон'югатів в гомогенатах печінки експериментальних тварин у порівнянні з інтактним контролем (табл. 1).

Уведення експериментальним тваринам з проявами МС діакаμφ сприяє зниженню оксидативного стресу, про що свідчить значно знижений рівень первинних продуктів ПОЛ в гомогенатах печінки у порівнянні з групою тварин, які одержували плацебо. Слід зазначити, що за вказаними властивостями діакаμφ переважає препарат порівняння метформін.

Також встановлено, що у щурів з індукованими проявами МС рівень фруктозаміну, який є продуктом початкових реакцій неферментативного глікозилювання, достовірно підвищився на фоні хронічного надходження фруктози і зазнав зниження при уведенні тваринам діакаμφ (табл. 2).

Отримані результати також свідчать, що за умов оцінки антиоксидантної системи захис-

ту рівень відновленого глутатіону в експериментальній групі щурів значно підвищився, а активність каталази зазнала зниження внаслідок тривалого надходження фруктози. Уведення тваринам з проявами МС діакаμφ сприяє відновленню величин даних показників до рівнів інтактного контролю.

При визначенні інтегрального показника, який характеризує стан антиоксидантної системи захисту в організмі, відзначено зниження загальної антиоксидантної активності в сироватці крові експериментальних тварин на фоні уведення фруктози майже в 4 рази та її підвищення під впливом уведення діакаμφ до рівня метформіну.

У результаті проведених досліджень також встановлено, що тривале застосування кролям дитизону призводить до розвитку оксидативного стресу, обумовленого інтенсифікацією ПОЛ. Останнє підтверджено збільшенням вмісту його первинних та вторинних продуктів в гомогенатах печінки діабетичних тварин

ТАБЛИЦЯ 4

Показники антиоксидантного захисту в сироватці крові кролів із дитизоновим діабетом, які отримували діакаμφ протягом 2 місяців ($X \pm S_x$), n=5

Група тварин	Активність каталази, мкат/хв.	Церулоплазмін, ммоль/л	Відновлений глутатіон, ммоль/л	Загальна антиоксидантна активність, %
Інтактний контроль	21,62±0,91	181,50±14,36	12,13±1,33	42,91±4,48
Діабет + плацебо	17,18±0,99 P ₁ <0,05	270,81±22,40 P ₁ <0,05	9,98±1,47 P ₁ >0,05	10,31±2,45 P ₁ >0,001
Діабет + метформін	15,93±1,19 P ₁ <0,02 P ₂ >0,05	162,54±13,37 P ₂ >0,05 P ₁ <0,02	14,38±0,16 P ₂ >0,05 P ₁ <0,02	44,50±3,07 P ₂ >0,05 P ₁ <0,001
Діабет + діакаμφ	16,43±1,09 P ₁ <0,02 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05	222,41±26,91 P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05	10,49±0,91 P ₁ >0,05 P ₂ >0,05 P ₃ <0,02	45,20±8,71 P ₁ >0,05 P ₂ <0,001 P ₃ <0,05

Примітки: P₁ – достовірність різниці у порівнянні з групою «інтактний контроль»; P₂ – достовірність різниці у порівнянні з групою «діабет + плацебо»; P₃ – достовірність різниці у порівнянні з групою «діабет + метформін».

у порівнянні з інтактною групою (табл. 3).

Одержані дані свідчать, що уведення діабетичним тваринам діакаму сприяє зниженню рівня МДА та вмісту первинних продуктів ПОЛ у гомогенаті печінки подібно метформіну.

У результаті оцінки антиоксидантного статусу діабетичних тварин в їх сироватці крові відзначено підвищення концентрації церулоплазміну, зниження концентрації відновленого глутатіону та активності каталази (табл. 4).

Встановлено, що уведення діабетичним тваринам діакаму так само, як і метформіну, сприяє нормалізації концентрації церулоплазміну в сироватці крові, що можна розглядати як результат пригнічення оксидативного стресу внаслідок антиоксидантної дії зазначених препаратів.

За результатами оцінки загальної антиоксидантної активності діакаму також встановлено, що ступінь її вираженості не поступається саме такій, як у метформіна. Разом із тим у 2 рази нижча доза діакаму у порівнянні з останнім, яка забезпечує досягнення терапевтичного ефекту, свідчить про певні переваги діакаму за здатністю посилювати антиоксидантний статус тварин за умов ЦД.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що хронічне уведення діакаму експериментальним тваринам з індукованим ЦД та проявами МС сприяє зниженню вираженості оксидативного стресу.

2. Доведено, що діакамф у дозі в 2 рази нижчій має певні переваги перед метформіном за антиоксидантними властивостями.

ЛІТЕРАТУРА

1. Герасимова Е.Н. Дислипотеидемия и гормоны в плазме крови мужчин 40-59 лет / Дислипотеидемия и ишемическая болезнь сердца. — М.: Медицина, 1980. — С. 83-102.
2. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. — Л.: Медицина, 1973. — 141 с.
3. Волчегорский И.Ф., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. — 1989. — №1. — С. 127-131.
4. Декл. патент 45335 А Україна. Антидіабетичний засіб «Діакамф» // Промислова власність. — 2002. — №4. — С. 21.
5. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. — Минск: Беларусь, 1982. — 432 с.

6. Королюк А., Иванова Л., Майорова И. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — №1. — С. 16.
7. Мерзлікін С.І., Болотов В.В. Залежність чистоти діакаму від умов синтезу // Фармаком. — 2003. — №1. — С. 65-68.
8. Мерзлікін С.І., Пашнев П.Д. Експериментальне обґрунтування технологічних аспектів розробки таблеток діакаму // Фарм. журн. — 2002. — №2. — С. 84-89.
9. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теседкин Ю.О. и соавт. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеинов // Лаб. дело. — 1985. — №2. — С. 59-62.
10. Патент 2205826 РФ. (±)-Цис-3-(2'-бензимидазол-ил)-1,2,2-триметилцикло-пентанкарбоновая кислота, проявляющая сахароснижающее и антидиабетогенное действие. — Опубл. 10.06.03. — Бюл. №16.
11. Плохинский Н.А. Математические методы в биологии. — М.: Изд-во МГУ, 1978. — 285 с.
12. Beutler E., Duron O., Kelly B. Improved method for the determination of blood glutathion // Lab. clin. med. — 1963. — Vol. 63. — №5. — P. 882-888.
13. Heart outcomes prevention evaluation study investigators. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients // N. Engl. J. Med. — 2000. — Vol. 342. — P. 154-160.
14. Levi B., Werman M. Long term fructose consumption accelerates glycation and several age-related variables in male rats // S. Nutrition. — 1998. — Vol. 128. — P. 1442-1449.
15. Marso S.P. The pathogenesis of type 2 diabetes and cardiovascular disease // Br. J. Diabetes Vasc. Dis. — 2002. — Vol. 2. — P. 350-356.
16. Okamoto H. Regulation of proinsulin synthesis in pancreatic islets and a new aspect to insulin-dependent diabetes // Molec. cell. Biochem. — 1981. — Vol. 3. — P. 43-61.
17. Paolisso G., Di Maro G., Pizza G. et al. Plasma GSH/GSSG affects glucose homeostasis in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetics // Amer. J. Physiol. — 1992. — Vol. 263. — №3. — P. E435-E440.
18. UK Prospective diabetes study (UKPDS) group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34) // Lancet. — 1998. — Vol. 352. — №9131. — P. 854-865.

Т.В.Соколюк, Н.И.Горбенко, С.И.Мерзлікин, Д.Г.Подгайный. Исследование влияния диакаму на оксидативный стресс в условиях экспериментального сахарного диабета и метаболического синдрома. Харьков, Украина.

Ключевые слова: сахарный диабет, метаболический синдром, оксидативный стресс, диакамф, метформин.

Представлены результаты исследования антиоксидантных свойств диакаму на кролях в условиях дитизионового диабета и крысах в условиях индуцированных фруктозой проявлений метабо-

лического синдрома. Установлено, что хроническое введение экспериментальным животным с гипергликемией и инсулинорезистентностью диакамфа способствует снижению у них выраженности оксидативного стресса.

T.V.Sokolyuk, N.I.Gorbenko, S.I.Merzlikin, D.G.Podgayniy. Research of the influence of diacamph to oxidative stress in conditions of experimental diabetes mellitus and metabolic syndrome. Kharkiv, Ukraine.

Key words: diabetes mellitus, metabolic syndrome, oxidative stress, diacamph metformine.

The results of the study of antioxidant properties of diacamph on rabbits in the conditions of ditizone diabetes mellitus and on rats in conditions of metabolic syndrome which induct by fructose are represented. It is set that chronic introduction of diacamph to the experimental animals with hyperglycemia and insulinorresistance results in the decrease at them of expression of oxidative stress.

Надійшла до редакції 08.02.2009 р.

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2009
УДК 616.379 – 008.64: 615.252.349

Вплив похідного сукцинанілової кислоти на глюкозний гомеостаз та оксидантний статус щурів із цукровим діабетом 2 типу

О.М.Кириченко

Національний фармацевтичний університет
Харків, Україна

Досліджено вплив фенілетиламід сукцинанілової кислоти (ФС) на глюкозний гомеостаз та оксидантний статус щурів із неонатально-індукованим стрептозотоциновим діабетом. Встановлено, що застосування ФС протягом трьох місяців поліпшує толерантність до вуглеводів, знижує виразність базальної гіперглікемії та оксидативного стресу. Виявлені антигіперглікемічні та антиоксидантні властивості ФС обґрунтовують доцільність його подальшого дослідження як перспективного засобу для лікування цукрового діабету 2 типу.

Ключові слова: фенілетиламід сукцинанілової кислоти, антиоксидантна активність, антигіперглікемічні властивості, цукровий діабет 2 типу.

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) визнано глобальною медико-соціальною проблемою XXI століття

на підставі епідемічного характеру розповсюдження цього захворювання, яке займає 7 місце серед головних причин смертності населення в більшості країн світу [9].

За останні 10 років кількість хворих на ЦД в Україні зросла більш ніж у 1,5 рази і становить близько 1 млн осіб, серед яких 90% складають хворі на ЦД 2 типу. Вищезазначене захворювання являє собою кінцеву стадію гетерогенних метаболічних порушень, обумовлених розвитком інсулінорезистентності та погіршенням функції панкреатичних β -клітин [6].

Нещодавно сформульовано гіпотезу, за якою оксидативний стрес виступає патогенетичним механізмом, що поєднує інсулінорезистентність із дисфункцією панкреатичних β -клітин та ендотелію, що створює передумови для застосування антиоксидантів з метою профілактики та лікування ЦД і його судинних ускладнень.

Окрім того, існують повідомлення про можливість компенсації порушень в окисленні глюкози, які призводять до зниження секреторної реакції панкреатичних β -клітин у хворих на ЦД