УДК: 616-092.9 615.252.349.7

Банзаракшеев В.Г.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПАТОФИЗИОЛОГИИ И ФАРМАКОТЕРАПИИ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА У КРЫС

ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет», г. Улан-Удэ

Резюме. *На крысах в эксперименте установлено, что аллоксановый диабет сопровождается усилением процессов пероксидации и снижением активности эндогенной антиоксидантной защиты. Активация свободнорадикального окисления сопровождается повышением в крови уровня малонового диальдегида на 67%, диеновых конъюгатов на 24%, при этом активность каталазы снижается до 37%. Кроме того, на фоне сахарного диабета наблюдаются выраженные изменения показателей углеводного и липидного обмена, в том числе увеличение в крови в 1,7 раза количества модифицированных липопротеинов низкой плотности. Установлено, что курсовое профилактическое введение фитосредства ингибирует образование продуктов перекисного окисления липидов и повышает антиокислительный потенциал, нормализует показатели углеводного и липидного обмена.*

Ключевые слова: *антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, углеводный и липидный обмен, сахарный диабет, фитосредство.*

Banzaraksheev V.G.

EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE PATHOPHYSIOLOGY AND PHARMACOTHERAPY OF ALLOXAN DIABETES IN RATS

Summary. *The experiment to rats found that the alloxan diabetes is accompanied by the increasing processes of peroxidation and decreasing endogenic antioxidant defense. Activation of free-radical oxidation is followed by the increase of malondialdehyde's level in blood by 67%, diene conjugates by 24%, whereas activity of catalase decreases by 37%. Besides, associated with diabetes mellitus, significant changes of indicants of carbohydrate and lipid metabolism are registered, including increase in blood of modified low density lipoproteins by 1,7 times as much. Is established that course preventive introduction of the phytoremedy inhibits the formation of products of lipid peroxidation and increases the antioxidant potential, normalized carbohydrate and lipid metabolism.*

Keywords. *antioxidant system, lipid peroxidation, carbohydrate and lipid metabolism, diabetes mellitus, phytoremedy.*

В настоящее время в большинстве стран мира распространенность сахарного диабета достигла масштабов эпидемии [4]. Так, по мнению экспертов, за последние десятилетия количество больных данной патологией удвоилось и составило около 160 миллионов, а к 2025 году прогнозируется следующее удвоение этого показателя [15]. Актуальность диабета обусловлена, прежде всего, его социальной значимостью вследствие развития тяжелых инвалидизирующих осложнений, причинами которых являются поражения сосудистого русла в виде микро- и макроангиопатий [4]. Общеизвестно, что основным фактором риска их развития выступает порочный круг нарушений углеводного и липидного обмена [9]. Более того, патофизиологическая общность указанных метаболических расстройств заключена в их роли мощных эндогенных прооксидантов, способных вызвать ослабление антиоксидантного статуса организма и запуск процессов пероксидации [7, 11, 14].

Несомненно, что одним из способов коррекции нарушенного гомеостаза служит рациональная фармакотерапия сахарного диабета. В этом плане перспективными являются многокомпонентные фитосредства благодаря их комплексному воздействию на функциональную активность организма за счет содержания широкого спектра биологически активных веществ и отсутствию побочных эффектов при длительном применении из-за родства метаболизма растительной и животной клетки [1, 3].

Цель исследования. Экспериментальная оценка патофизиологии и фармакотерапевтической эффективности фитосбора аллоксан-индуцированного диабета у крыс.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 24 крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 170-180г. Лабораторные животные содержались в стандартных условиях вивария при одинаковом уходе и питании, световом и температурном режиме в соответствии с Приказом МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Экспериментальные исследования проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г.) и «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986).

Сахарный диабет у крыс индуцировали однократным внутрибрюшинным введением аллоксана моногидрата в дозе 200 мг/кг [12].

Для оценки фармакотерапевтической эффективности диабета был использован многокомпонентный фитосбор, состоящий из корневищ *Zingiber officinalis L.,* плодов *Rosa cinnamomea L*., корнеплодов *Beta vulgaris L*., плодов *Malus baccata (L) Borkh*. и др. Указанный фитосбор применяли в форме отвара профилактическим курсом внутрижелудочно в объеме 1 мл/100 г массы 1 раз в сутки в течение всего срока эксперимента. Животным контрольной группы вводили эквиобъемное количество воды очищенной по аналогичной схеме. Исследования проводили через 14 суток от момента введения аллоксана моногидрата.

Состояние углеводного обмена у животных изучали по уровню гликемии глюкозооксидазным методом, показатели липидного обмена оценивали по содержанию в сыворотке крови общего холестерина (ОХС), триацилглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) ферментативным методом на биохимическом анализаторе «Сапфир-400», холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) рассчитывали по общепринятой формуле Фридвальда [5].

Для оценки интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови животных определяли концентрации малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК), состояние антиоксидантной защиты (АОЗ) изучали по активности каталазы спектрофотометрическим методом [2;6;10].

Определение уровня модифицированных ЛПНП (мЛПНП) проводили экспресс-методом с использованием поливинилпирролидона [13].

Полученные в ходе экспериментов данные статистически обработаны с применением пакета прикладных программ «Excel». Значимость различий определяли с помощью t-критерия Стъюдента при вероятности 95% ($P \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение. Известно, что введение аллоксана моногидрата в организм лабораторных животных приводит к токсическому повреждению ткани поджелудочной железы [12]. Механизм диабетогенного действия индуктора основан на его химическом сродстве с молекулой глюкозы, а также селективной токсичности аллоксана, позволяющей ему свободно проникать в β-клетки островков Лангерганса [8]. Последующая динамика расстройств, проявляющаяся гипергликемией и низкой ферментативной защитой от процессов пероксидации, инициирует в данном типе клеток каскад свободнорадикальных реакций, приводящих к их дегенеративным изменениям вплоть до апоптоза.

Так, патогенное действие индуктора сопровождалось существенным расстройством гомеостатического потенциала организма крыс с нарушением углеводного обмена в форме стойкой гипергликемии (табл. 1). Кроме того, у лабораторных животных уже на ранних сроках эксперимента отмечалось снижение их массы тела в среднем на 9,5%, по-видимому, вызванное нарушением водно-минерального обмена вследствие полидипсии, полиурии и усиления процессов катаболизма.

Таблица 1

Влияние фитосредства на показатели углеводного и липидного обмена при аллоксановом диабете у крыс

Показатели	Группы животных		
	Интактная (n=8)	Контрольная (n=8)	Опытная (n=8)
Глюкоза, ммоль/л	4,11±0,21*	11,33±0,20	8,49± 0,18*
ТГ, ммоль/л	0,71± 0,04*	1,94± 0,10	1,14± 0,03*
ОХС,ммоль/л	1,39± 0,14	1,66± 0,10	1,40± 0,11*
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,25± 0,01*	0,36± 0,15	0,29± 0,11*
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,95± 0,10	0,87± 0,12	1,10± 0,11*

Примечание: * – здесь и далее: статистически значимые различия по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$

Как следует из данных таблицы 1, нарушение углеводного метаболизма у крыс контрольной группы сопровождалось нарастанием уровня гликемии в 2,7 раза по сравнению с аналогичным показателем в интактной группе животных.

Общеизвестно, что состояние хронической гипергликемии по принципу порочного круга способно вызывать нарушения липидного обмена с активацией механизмов липолиза [5]. В результате этого увеличивается скорость мобилизации и высвобождение в кровь неэстерифицированных жирных кислот, которые в печени эстерифицируются до ТГ и секретируются в форме наиболее атерогенных ЛПНП [9]. В ходе проведенных нами исследований установлено, что аллоксан-индуцированный диабет у крыс сопровождался значительными изменениями показателей липидного обмена. Так, на 14 сутки эксперимента в контрольной группе животных уровень ТГ возрастал в 2,7 раза, ОХС на 19%, атерогенная фракция ХС ЛПНП увеличивалась на 44% и одновременно с этим, отмечалось незначительное снижение антиатерогенного ХС ЛПВП.

Вместе с тем, из таблицы 1 видно, что превентивное введение фитосредства крысам опытной группы приводило к снижению гипергликемии на 25% и заметной нормализации показателей липидного метаболизма. В частности, липидограмма характеризовалась снижением уровня гипертриглицеридемии на 41%, гиперхолестеринемии на 16%, при этом содержание ХС ЛПНП уменьшалось до 20%, в то время как антиатерогенный ХС ЛПВП увеличивался на 26%.

Как следует из данных литературы, состояние длительной дислипидемии в совокупности с действием активных форм кислорода, генерируемых при аутоокислении глюкозы в условиях хронической гипергликемии, ведет к активации процессов свободнорадикального окисления - основного повреждающего фактора для β-клеток островков Лангерганса [7, 9, 11]. Помимо этого, изменения в антиоксидантной системе организма крыс вызываются прямым действием аллоксана, метаболизирующегося при его внедрении в клетку в диалуровую кислоту–- источник образования свободных радикалов [8]. Отсюда становится понятной взаимосвязь указанных этиопатогенетических механизмов в инициации свободнорадикального окисления, ведущего к избыточному образованию продуктов переокисления (табл. 2).

Таблица 2

Влияние фитосредства на показатели ПОЛ, АОЗ и уровень мЛПНП при аллоксановом диабете у крыс

Показатели	Группы животных		
	Интактная (n=8)	Контрольная (n=8)	Опытная (n=8)
МДА, мкМ/мл мин	3,12± 0,17*	5,24± 0,16	3,72±0,14*

ДК, ед. ОП	4,62± 0,45	5,74± 0,56	4,36±0,32*
Каталаза, мКат/мл	0,46± 0,03*	0,29± 0,01*	0,41±0,07*
мЛПНП, ЕД	56,7±2,3*	111,4±3,15	90,2±1,75*

Лабораторные данные в таблице 2 свидетельствуют, что у животных контрольной группы наблюдалось повышение концентрации МДА и ДК на 67 и 24% соответственно и, одновременно с этим, снижение активности каталазы до 37%, что характеризует резкий дисбаланс между скоростью переокисления и активностью АОЗ организма.

Наряду с этим, в условиях ослабления антиокислительного потенциала на фоне гиперлипопероксидемии и действия переокисленных продуктов, генерируемых при аутоокислении глюкозы, гипергликемия посредством образования конечных продуктов гликирования, усугубляет пероксидацию атерогенных ЛПНП [11]. При дальнейшем анализе результатов таблицы 2 видно, что индукция аллоксанового диабета сопровождалась признаками окислительной модификации ЛПНП. Так в сравнении с интактной группой животных, в крови контрольной группы крыс отмечалось нарастание в 1,7 раза количества мЛПНП. Как утверждают авторы, патофизиологическое значение мЛПНП сводится к их атерогенности посредством усиленного захвата макрофагами, хемотаксичности в отношении моноцитов и прямой цитотоксичности к клеткам эндотелия [14]. Установленные нарушения в системе ПОЛ-АОЗ на фоне выраженной гипергликемии и дислипидемии характеризуют выраженность окислительного стресса и значимость этих метаболических процессов в формировании патогенетических механизмов сахарного диабета [7].

Одновременно с этим следует отметить, что превентивное введение крысам растительного средства приводило к снижению содержания в крови МДА на 29%, ДК на 24%, мЛПНП на 19% и повышению активности каталазы на 41% по сравнению с соответствующими данными у животных контрольной группы.

Заключение. **Таким образом, результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что индуцированный диабет сопровождается формированием порочного круга расстройств углеводного и липидного метаболизма. При этом базисным механизмом аллоксанового диабета у крыс является активация процессов пероксидации на фоне гипоантиоксидантемии, способствующей аутоокислению глюкозы с образованием гликотоксинов и конечных продуктов гликирования, а также окислительной модификации ЛПНП [7, 8, 11, 14].**

Установлено, что курсовое превентивное назначение многокомпонентного средства достоверно снижает в крови животных уровень глюкозы, ОХС, ТГ, ХС ЛПНП и повышает содержание ХС ЛПВП. Кроме того, введение фитосбора препятствует избыточному накоплению продуктов переокисления, повышает антиоксидантный потенциал организма и предотвращает окислительную модификацию атерогенного класса ЛПНП. По-видимому, комплексное растительное средство в силу сложности своего химического состава и гармоничного сочетания в нем биологически активных соединений, оказывает поливалентный эффект на организм лабораторных животных, тем самым, обеспечивая его выраженную фармакотерапевтическую эффективность при экспериментальном диабете.

Литература:

1. Ажунова Т.А. Гиполипидемическое и сахароснижающее действие комплексного растительного средства / Т.А. Ажунова, С.М.Николаев, В.Г. Банзаракшеев // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2007. – № 2. – С.27-29.
2. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б.Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.
3. Головкин Б.Н. Биологически активные вещества растительного происхождения / Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова. – М. : Наука, 2002. – 216 с.

4. Дедов И.И. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION) / И.И.Дедов, М.В.Шестакова, Г.Р.Галстян // Сахарный диабет. – 2016. – № 19 (2). – С.104-112.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2000. – 463 с.
6. Королюк М.А. Методы определения активности каталазы / М.А.Королюк, Л.И.Иванова, И.Г.Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С.16 -19.
7. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь. – Новосибирск: Арта, 2008.– 284 с.
8. Можейко Л.А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. Аллоксановый диабет / Л.А.Можейко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2013. – № 3. – С.26-28.
9. Порядин Г.В. Патофизиология углеводного обмена. Сахарный диабет / Г.В. Порядин, Ж.М. Салмаси. – М. : РГМУ, 2013. – 38 с.
10. Темирбулатов Р.А. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение / Р.А. Темирбулатов, Е.И. Селезнев // Лабораторное дело. – 1981. – № 4. – С. 209-211.
11. Титов В.Н. Глюкоза, гликотоксины и продукты гликирования. Участие в патогенезе микроангиопатий, артериолосклероза и атеросклероза / В.Н. Титов, Ю.К. Ширяева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 11. – С.3-13.
12. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.
13. Шойбонов Б.Б. Простой способ определения модифицированных липопротеинов низкой плотности / Б.Б. Шойбонов, В.Ю .Баронец, Л.Ф. Панченко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2012. – № 2. – С.77-82.
14. Virella G. Atherosclerosis and humoral immune response to modified lipoproteins / G. Virella, M.F. Lopes-Virella // Ahterosclerosis. – 2008. – Vol.20. – P. 239-246.
15. Whiting D.R. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030 / D.R. Whiting, L. Guariguata, C. Weil // Diabetes Research Clinical Practice. – 2011. – Vol.94. – P.311-321.