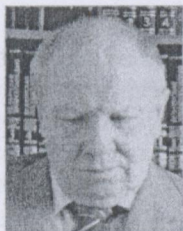


Вячеслав Буко,
заведомо
биохимической
фармакологии Института
фармакологии и
биохимии
НАН Беларуси,
профессор, доктор
биологических наук



Елена Лапшина,
ведущий научный
сотрудник Института
фармакологии и
биохимии НАН
Беларуси, кандидат
биологических наук



**Оксана
Лукивская,**
ведущий научный
сотрудник Института
фармакологии и
биохимии НАН
Беларуси, кандидат
биологических наук



**Светлана
Ильина,**
завкафедрой
офтальмологии
Гродненского
государственного
медицинского
университета, кандидат
медицинских наук



Сергей Кирко,
младший научный
сотрудник Института
фармакологии и
биохимии НАН
Беларуси



Илья Заводник,
завкафедрой биохимии
Гродненского
государственного
университета им.
Я. Куялы, доктор
биологических наук,
ведущий научный сотрудник
Института фармакологии и
биохимии НАН Беларуси



Коррекция диабета и его осложнений

6505

Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе диабета 1-го и 2-го типов и его осложнений. Основным источником свободных радикалов – окисляемая глюкоза в ее знедиольной форме (рис. 1). Неферментативное гликозилирование белков и аутоокисление глюкозы приводят к появлению супероксид-аниона и гидроксильного радикала. Процесс включает в себя наработку конечных продуктов гликозилирования (КПГ) и их взаимодействие со специфическими рецепторами, запускающими сигнальный каскад. Стратегия угнетения этого процесса предполагает применение ингибиторов гликозилирования, хелаторов и антиоксидантов. Среди последних наиболее эффективной, в частности, при диабетической ретинопатии считается липоевая кислота. В то же время поиск антиоксидантов, препятствующих активации окислительного стресса при диабете, продолжается.

ПОЛИНОИЛФОС-ФАТИДИЛХОЛИН (ПФХ)

Мембраностабилизирующие свойства ПФХ (дилинолеил-фосфатидилхолин) известны более 20 лет. Изменения в мембранах после его использования сводятся к повышению их текучести вследствие замещения насыщенных жиров полиненасыщенными фосфолипидами. Препарат применяется при поражениях печени, прежде всего – при стеатогепатитах, что на сегодня достаточно фундаментально обосновано.

Впервые на возможные антиоксидантные свойства указали Клиндер и соавторы, обнаружившие повышение уровня восстановленного глутатиона в печени, сыворотке и аорте, и снижение наработки H_2O_2 у крыс, получавших ПФХ. Мы считаем, что антиоксидантный эффект ПФХ связан с изменениями липидного окружения мембранносвязанного цитохрома P-450 2E1 – основного источника свободных кислородных радикалов при хронической алкогольной интоксикации [1]. Дальнейшие исследования, проведенные в лаборатории профессора Либера [2], продемонстрировали явный антиоксидантный эффект ПФХ у крыс с фиброзом печени, вызванном CCl_4 , где ПФХ снижал содержание F_2 -изопростана и

4-оксиноненаля. У крыс с алкогольным поражением печени ПФХ уменьшал уровень цитохрома P-450 2E1.

Исследуя влияние ПФХ на структуру и функции поджелудочной железы, мы обнаружили увеличение числа и размеров островков Лангерганса, количество β -клеток островкового аппарата и число хромаффинных гранул в этих клетках у крыс с аллоксановым диабетом [3]. Одновременно ПФХ снижал уровень глюкозы в крови и печени и повышал наработку инсулина. ПФХ увеличивал экспрессию мРНК-инсулина и предупреждал повреждение β -клеток стрептозотоцином, снижал наработку продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени крыс с аллоксановым диабетом, нормализовал спектр фосфолипидов и жирных кислот в мембранных структурах [4]. Приведенные данные свидетельствуют, что защитный эффект ПФХ при экспериментальном диабете обусловлен как его антиоксидантным действием, так и стабилизацией мембранных структур островкового аппарата поджелудочной железы, что в итоге приводит к восстановлению секреции инсулина и снижению уровня глюкозы у диабетических животных.

УРСОДЕЗОКСИХОЛЕВАЯ КИСЛОТА (УДХК)

Препарат используется в клинической практике для лечения холестатических заболеваний печени, а в течение последних 10 лет – и для терапии недугов нехолестатической патологии (стеатозы, стеатогепатиты, гепатиты, фиброз печени). УДХК показана также при неалкогольном стеатогепатите (НАСГ), ключевую роль в развитии которого играет инсулиновая резистентность. Наши данные свидетельствуют о том, что УДХК оказывает выраженный гепатопротективный эффект у животных с НАСГ, вызванным диетой, дефицитной по холину и метионину. При этом падает уровень глюкозы и нормализуется уровень инсулина сыворотки крови.

Антиоксидантный эффект УДХК интенсивно изучался в течение последнего десятилетия. У крыс с алкогольным стеатозом кислота снижала конечные продукты ПОЛ в митохондриях крыс. Нами показано, что в печени облученных крыс под влиянием УДХК нормализовалась активность супероксиддисмутазы и содержание карбонильных продуктов ПОЛ, а также уменьшался уровень восстановленного глутатиона [5].

Исследования, проведенные в нашей лаборатории, показали защитный эффект урсодезоксихолевой кислоты на поджелудочную железу крыс с аллоксановым диабетом. При введении данного препарата повы-

шалось число панкреатических островков и β -клеток в них, нормализовалась секреция инсулина и уровень глюкозы в крови [6].

Митохондриальная дисфункция при диабете тесно связана с окислительным стрессом. Повышенная наработка активных форм кислорода (АФК) приводит к повреждению митохондриальной функции, в частности, через мутации митохондриальной ДНК. С другой стороны, окислительный стресс может активироваться вследствие нарушений митохондриальной биоэнергетики.

Нормализация наработки АФК в митохондриях ингибиторами метаболизма, антиоксидантами или разобщителями дыхательной цепи может предупредить многие осложнения диабета. Нами исследовалось влияние УДХК на митохондриальную функцию и окислительный стресс у крыс с аллоксановым диабетом [7]. У этих животных повышались митохондриальное дыхание в состоянии 4 (субстрат – пальмитоилкарнитин) и дыхательный контроль со всеми исследуемыми субстратами (сукцинат, пальмитоилкарнитин, пируват + малат). Кроме того, у диабетических крыс снижалось соотношение АДФ/О, характеризующее окислительное фосфорилирование, а также активность сукцинатдегидрогеназы в митохондриях. Введение УДХК этим животным оказывало выраженный

защитный эффект на митохондриальное дыхание. Активность митохондриальных дегидрогеназ также нормализовалась после введения УДХК. Экспериментальные данные подтверждают способность препарата снижать ПОЛ и наработку АФК, а также повышать уровень восстановленного глутатиона, что свидетельствует о способности УДХК проявлять антиоксидантную защиту в митохондриях печени крыс с аллоксановым диабетом. Достаточно трудно выяснить, какой процесс первичен в цепи нарушений митохондриальной функции при диабете: окислительный стресс или нарушения биоэнергетики. Но можно однозначно заключить, что УДХК способна предупредить нарушения митохондриальной функции при диабете 1-го типа, и этот процесс тесно связан с антиоксидантным действием препарата.

МЕЛАТОНИН

N-ацетил-5-метокси-триптамин как основной секреторный продукт эпифиза участвует в регуляции циркадных и сезонных ритмов, в процессах репродукции. Его действие обусловлено рядом рецепторов. Доказана роль мелатонина как эффективного прямого и непрямого антиоксиданта на уровне клеточных мембран, митохондрий и ядер [8]. Предполагают прямое взаимодействие сигнальных каскадов мелатонина и инсулина [9].

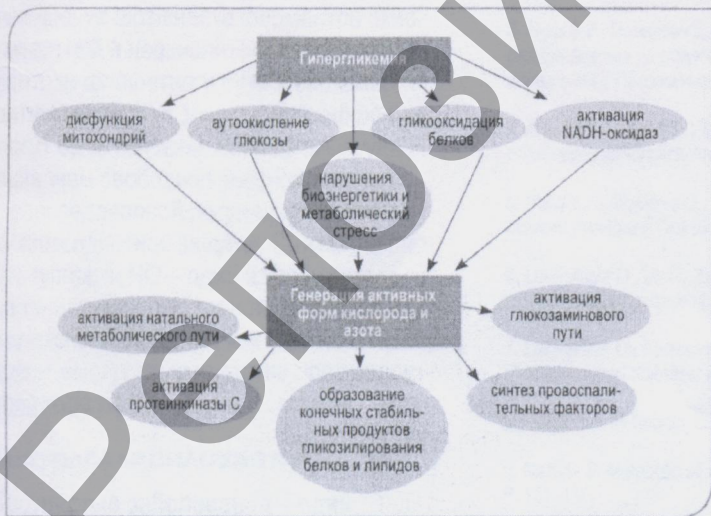


Рис. 1. Схема взаимосвязи диабета и окислительного стресса

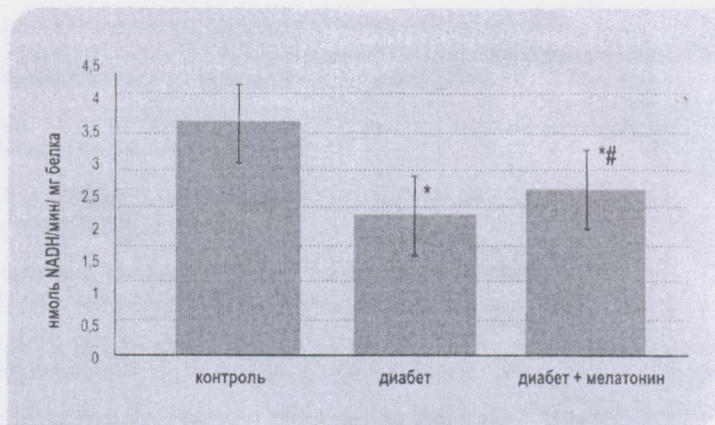


Рис. 2. Активности транскетолазы в ткани печени крыс. Эффект диабета и введения мелатонина

* — статистически достоверно по сравнению с группой «контроль»
— статистически достоверно по сравнению с группой «диабет»

Мы исследовали метаболические эффекты введения мелатонина (10 мг/кг, ежедневно в течение 18 дней) при стрептозотоцин-индуцируемом диабете у крыс. Вызванная патология сопровождалась значительной гипергликемией, повышением уровня гликозилированного гемоглобина и задержкой роста животных, значительным уменьшением активности ряда ферментов метаболизма глюкозы в ткани печени: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы – в 2,2 раза, транскетолазы – в 1,7 раза; ферментов антиоксидантной защиты: глутатионпероксидазы – в 1,3 раза и каталазы – в 1,2 раза. Введение животным мелатонина в значительной степени предотвращало инактивацию ферментов при диабете (рис. 2), оказывало гепатопротекторный эффект [10]. Диабет сопровождался значительным возрастанием уровня оксида азота в плазме крови (на 50%) и в ткани аорты (на 30%), но не в печени. Следует отметить, что показатели оксида азота в ткани аорты ($3,92 \pm 0,73$ нмоль/мг белка) оказались значительно больше, нежели в печени крыс ($0,59 \pm 0,13$ нмоль/мг белка). Введение мелатонина диабетическим животным приводило к уменьшению уровня NO в плазме и аорте до значений контроля.

Таким образом, введение мелатонина в значительной степени предотвращало нарушения активности ферментов окислительной и неокислительной ветвей пентозо-фосфатного пути и системы антиоксидантной защиты. Эти эффекты могут быть связаны как с прямым улавливанием свободных радикалов, так и с опосредованной регуляцией системы антиоксидантной защиты. Снижение биодоступности NO – один из возможных механизмов протекторного действия мелатонина, который, как показано нами, может выступать в качестве прямого сквенджера NO.

АЦЕТИСАЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА

Сосудистые заболевания – один из основных патогенетических факторов развития долговременных

осложнений диабета. Мы исследовали метаболические эффекты длительного (9 недель) стрептозотоцин-индуцируемого диабета у крыс и введения малых доз ацетилсалициловой кислоты (ASA, аспирина) на фоне диабета для разработки способов направленной коррекции диабетических поражений органов и тканей. Современная схема лечения диабета предполагает использование малых доз аспирина с целью предотвращения долговременных сосудистых осложнений.

Уровень гликозилированного гемоглобина (GHb) значительно возрастал у диабетических животных, наблюдалась линейная корреляция между концентрацией глюкозы в крови и уровнем GHb для всех групп животных. Введение ASA в дозе 5 мг/кг и 50 мг/кг не изменяло у них уровень глюкозы в крови, несколько снижало показатель GHb, нарушало линейную зависимость содержания гликозилированного гемоглобина от концентрации глюкозы в крови.

Это свидетельствует о конкурентном взаимоотношении реакций гликозилирования и ацетилирования белков при введении ASA. В нашем эксперименте наблюдались изменения активности антиоксидантных ферментов, глутатионпероксидазы и каталазы, что говорит о сдвиге в системе антиоксидантной защиты тканей, изменении активностей глутатионтрансферазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, играющей важную роль в поддержании редокс-баланса клетки. Длительное введение ASA частично предотвращало эти видоизменения без видимого побочного его действия. Таким образом, угнетение гликозилирования белков путем ацетилирования свободных аминогрупп и снижение глюкозы крови ацетилсалициловой кислотой может предотвращать некоторые осложнения при диабете.

Приведенные результаты доказывают перспективность использования препаратов, обладающих антиоксидантным действием для коррекции диабета и профилактики его осложнений.

Литература

1. Klinger W., Müller D., Kleeberg U., Kretzschmar M., Splinter F.K. The influence of «essential» phospholipids (EPL) on phase-I- and phase-II-reactions and on the glutathione status in the liver of aging rats // *Exp. Pathol.* 1991. Vol. 41. P. 151–156.
2. Buko V., Arisukevich A., Maltsev A., et al. Effect of polyunsaturated phosphatidylcholine on lipid structure and cAMP-dependent signal transduction in the liver of rats chronically intoxicated with ethanol // *Exp. Toxic. Pathol.* 1994. Vol. 46. P. 375–382.
3. Буко В.У., Немкевич В.В., Мальцев А.Н., Никитин В.С., Малышко И.А., Игнатенко К.В. Влияние эссенциальных фосфолипидов на структурные и метаболические изменения в печени крыс при экспериментальном алкогольном поражении // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 1994. №4. С. 50–53.
4. Aleynik S.I., Leo M.A., Takeshige U., Aleynik M.K., Lieber C.S. Dilinoleoylphosphatidylcholine is the active antioxidant of polyenylphosphatidylcholine // *J. Investig. Med.* 1999. Vol. 476, №9. P. 507–512.
5. Buko V., Lukivskaya O., Nikitin V., et al. Hepatic and pancreatic effects of polyenylphosphatidylcholine in rats with alloxan-induced diabetes // *Cell Biochem. Funct.* 1996. Vol. 14, №2. P. 131–137.
6. Lukivskaya O., Lis R., Egorov A., Naruta E., Tauschel H.-D., Buko V.U. The protective effect of ursodeoxycholic acid in alloxan-induced diabetes // *Cell Biochem. Funct.* 2004. Vol. 22, №2. P. 97–103.
7. Lukivskaya O., Patsenker E., Buko V.U. Protective effect of ursodeoxycholic acid on liver mitochondrial function in rats with alloxan-induced diabetes: link with oxidative stress // *Life Sci.* 2007. Vol. 80, №26. P. 2397–2402.
8. Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals // *News Physiol. Sci.* 2000. Vol. 15. P. 246–250.
9. Nishida S. Metabolic effects of melatonin on oxidative stress and diabetes mellitus // *Endocrine* 2005. Vol. 27, №2. P. 131–136.
10. Sudnikovich E. Ju., Maksimchik Y.Z., Zabrodskaya S.V., et al. Melatonin attenuates metabolic disorders due to streptozotocin-induced diabetes in rats // *Eur. J. Pharmacol.* 2007. Vol. 569, №3. P. 180–187.