

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНООРГАНИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «СЕЛЕКОР» НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОЛ-АОЗ КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

В. А. Николаевский, А. А. Сильченко, В. И. Беляев

*Воронежский государственный университет
ГНУ ВНИВИ патологии и терапии Россельхозакадемии
Поступила в редакцию 15.02.2012 г.*

Аннотация. Исследовано состояние системы антиоксидантной защиты у животных с экспериментальным аллоксановым сахарным диабетом, а также проведена оценка влияния на эти процессы селеноорганического препарата «Селекор». Установлено, что свободно-радикальная патология при экспериментальном аллоксановом диабете развивается как вследствие нарушения баланса оксидазно-окислительных реакций, так и в результате аутоиммунных процессов, носит хронический характер и обуславливает истощение антиоксидантной системы организма. Подтверждено, что селеноорганический препарат «Селекор» обладает антиоксидантной защитой.

Ключевые слова: Сахарный аллоксановый диабет, окислительный стресс, свободные кислородные радикалы, селен, перекисное окисление липидов, α -токоферол, глюкоза, каталаза, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид

Annotation. Studied the state of the antioxidant protection system in animals with experimental alloxan-induced diabetes mellitus and assess the impact of these processes seleno-organic preparation «Selecocor». Established that free radical pathology in alloxan-induced diabetes develops as a result of imbalance oxidase-oxidative reactions, and as a result of autoimmune processes. It is confirmed that seleno-organic preparation «Selecocor» has antioxidant protection.

Key words: Alloxan diabetes mellitus, oxidizing stress, free oxygen radicals, selenium, lipid peroxidation, tocopherol, glucose, catalase, diene conjugate, malonic dialdehyde

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) – наиболее распространенная болезнь человека, не поддающаяся полному излечению и уносящая ежегодно жизни от одного до трех миллионов человек на нашей планете.

Несмотря на то, что признаки этой болезни известны уже почти четыре тысячи лет, внимание медиков и биологов к заболеванию проявляется на протяжении всего XX века, механизм ее развития, пока не раскрыт, а способы лечения, поэтому не радикальны. [1]

СД - это тяжелое метаболическое заболевание, связанное с нарушением всех видов обмена и, прежде всего, с углеводным обменом. Ведущая роль в этом принадлежит бета-клеткам поджелудочной железы, син-

тезирующих инсулин, повреждение которых в конечном итоге приводит к постепенным изменениям во всех метаболических и транспортных процессах, участвующих в обмене глюкозы в организме. [2]

При диабете развивается окислительный стресс, вызываемый свободными кислородными радикалами. У больных диабетом резко ухудшаются антиокислительные свойства крови; при экспериментальном диабете снижается активность ферментов антиокислительной защиты и повышается концентрация перекисей липидов в крови крыс и мышей. [3-6].

Ранее нами было установлено, что в сыворотке и эритроцитах больных СД первого и второго типа на всех стадиях заболевания повышенный уровень диеновой конъюгации и содержания малонового диальдегида (МДА).

© Николаевский В.А., Сильченко А.А., Беляев В.И., 2013

Концентрация α - токоферола в сыворотке и эритроцитах больных СД снижается по сравнению со значениями в норме. В эритроцитах больных СД содержание цитрата не изменяется относительно нормы, а в сыворотке происходит снижение уровня цитрата относительно контрольной группы. Исследования проводили у 107 больных СД первого и второго типа, находившихся на стационарном лечении ОКБ и ГК БСМП и 21 здоровых доноров.

В последние десятилетия у людей все чаще выявляется дефицит одного из жизненно важного микроэлемента - селена. Селен связан с функциями более ста ферментов и вместе с ними участвует в процессе детоксикации многочисленных продуктов метаболизма в организме, влияет на метаболизм и синтез многих гормонов, контролирует активность гуморального и клеточного иммунитета, влияет на воспроизводительную функцию [5]. Особо следует отметить вклад российских ученых в разработке малотоксичных и высокоэффективных селенсодержащих препаратов. Действие селеноорганических препаратов основано, прежде всего, на их антиокислительных (АО) свойствах. Экспериментально установлено, что препарат превосходит эталонный АО - витамин Е - в десятки раз и образует с ним важный комплекс.

Целью данного исследования явилось изучение состояния системы антиоксидантной защиты у животных с аллоксановым СД, а так же оценка влияния на эти процессы селеноорганического препарата Селекор.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты поставлены на 80 здоровых самцах линии «Вистар» массой 150 – 200 г, СД вызывали однократным внутрибрюшинным введением аллоксана производства фирмы «Sigma» из расчета 130,0 мг/кг (3% раствор) после 24-часового голодания (Баранов В. Г., 1983г.) Селеноорганический препарат вводили подкожно в дозе 10 мкг/кг. Исследования проводили у животных на 3-й, 7-й и 14-й день после введения препарата. У экспериментальных животных кровь брали из хвостовой вены.

Влияние препаратов на систему ПОЛ - АОЗ оценивали по следующим показателям: определения концентрации первичных и вторичных продуктов (диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА). Количественное определение ДК проводили спектрофотометрически при 233 Нм на СФ - 46, а МДА оценивали по количеству продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой. [5]

Содержание α - токоферола в сыворотке крови определяли фотометрически по реакции с ионами Fe^{2+} и ортофенантролином. Активность каталазы исследовали по методу М.А. Королюка. Результаты исследований представлены в таблицах 1 и 2. Цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики, а достоверность различий оценивали с помощью критерия t Стьюдента. Различия считали достоверными при значении $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В эритроцитах периферической крови крыс при аллоксановом диабете весь период исследования была достоверно повышена каталаза. Максимальное ее повышение в 1,86 раза было отмечено на седьмой день после введения аллоксана, что позволяет предполагать продолжающееся нарастание образования пероксида водорода и активации цепной неферментативной реакции окисления биомолекул в результате окисления аллоксана.

В сыворотке крови крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом, как с умеренной, так и с выраженной гипергликемией, выявлялся повышенный уровень диеновых конъюгатов и содержания МДА, что свидетельствует об интенсификации ПОЛ (табл. 1). У экспериментальных животных на третьи сутки концентрация диеновых конъюгатов возрастала в 2,0 раза, на седьмые сутки в 3,6 раза, а на 14-ые сутки в 3,3 раза по сравнению с контрольной группой животных. В сыворотке крови крыс с ИЗСД концентрация МДА возрастала в 1,2 раза, в 2,0 раза и в 1,68 раза соответственно на третьи, седьмые и 14-е сутки по сравнению с значениями в норме.

Активность некоторых показателей АО системы у крыс с аллоксановым диабетом

Показатели	Контрольная группа n=10	Опытная группа		
		Время после введения аллоксана, сут		
		3	7	14
Каталаза мкМ H ₂ O ₂ /л мин	28,9±1,4	n=10	n=12	n=10
Диеновые конъюгаты отн. ед. опт. пл/мл	0,235±0,01	35,7±1,52	57,4±1,3	50,1±1,62
МДА, мкМ/л	1,12±0,12	0,52±0,04	0,83±0,046	0,78±0,06
α-токоферол мкМ/л	6,695±0,5	1,413±0,08	2,32±0,056	1,89±0,054
		5,06±0,58	3,53±0,35	2,74±0,08

Содержание α-токоферола в сыворотке крыс с аллоксановым диабетом снижалась весь период исследования. Уровень витамина Е по сравнению с контролем был в 1,4; 1,97 и в 2,3 раза ниже соответственно на 3-и, 7-е и 14-е сутки.

У всех экспериментальных животных ИЗСД определяли уровень глюкозы на третьи, седьмые и четырнадцатые сутки. Пик повышения глюкозы наблюдался, от 3-х до 7 суток и составил 15,98 и 12,3 мМ/л соответственно.

Таким образом, у животных с аллоксановым СД наблюдается усиление свободно радикального окисления (СРО), что сопровождается высокой гипергликемией.

При лечении крыс с аллоксановым СД селеноорганическим препаратом Селекор концентрация каталазы не была выше значений в норме, но имела тенденцию к снижению показателей по сравнению с группой животных без лечения, о чем свидетельствуют показатели таблицы 2.

На седьмые сутки наблюдается максимальное повышение каталазы в 1,4 раза по

сравнению со значениями в норме. Концентрация ДК и МДА в сыворотке крови крыс с аллоксановым диабетом при лечении Селекором вызывает достоверное отличие от контрольной группы. На 3-ьи сутки концентрация диеновых конъюгатов возрастала в 1,52 раза, на 7-ые сутки в 2,96 раза и 14-ые сутки в 2,52 раза, что соответственно выше нормальных значений, но ниже по сравнению с группой крыс с аллоксановым диабетом без применения препарата. Наблюдалось снижение концентрации МДА по сравнению с контрольной группой ИЗСА на 16%; 30%; 18,8% соответственно на 3-ьи, 7-ые и 14-ые сутки.

Таким образом, имеется соответствие между степенью снижения МДА, ДК и каталазы, что свидетельствует об адекватной реакции АО системы при коррекции препаратами АО типа действия.

Уровень витамина Е у животных с диабетом при лечении селеноорганическим препаратом на 7-ые и 14-ые сутки практически не отличается от нормального значения. Наблюдается незначительное снижение α-токоферола в сыворотке крови на третьи сутки. Его значение было ниже контроля на

Состояние некоторых показателей ферментативного и неферментативного звена АО системы крови у крыс с аллоксановым диабетом при терапии Селекором

Показатели	Контрольная группа n=10	Опытная группа		
		Время после введения аллоксана на фоне Селекора, сут		
		3	7	14
Каталаза мкМ H ₂ O ₂ /л мин	27,2±1,7	n=10	n=10	n=12
Диеновые конъюгаты отн. ед. опт. пл/мл	0,24±0,02	31,8±1,8	38,7±2,1	36,0±1,8
МДА, мкМ/л	1,16±0,05	0,39±0,02	0,73±0,015	0,61±0,016
α-токоферол мкМ/л	5,21	1,24±0,06	2,0±0,027	1,7±0,03
		3,33±0,12	4,81±0,14	4,99±0,18

* – p>0.05

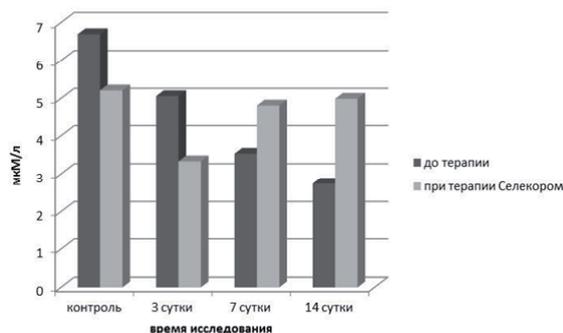


Рис.1. Концентрация α-токоферола у крыс с аллоксановым диабетом при терапии Селекором

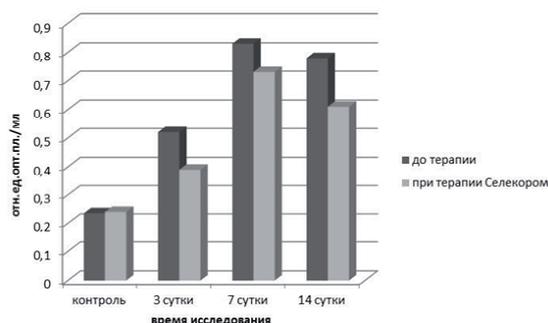


Рис.2. Концентрация диеновых конъюгатов у крыс с аллоксановым диабетом при терапии Селекором

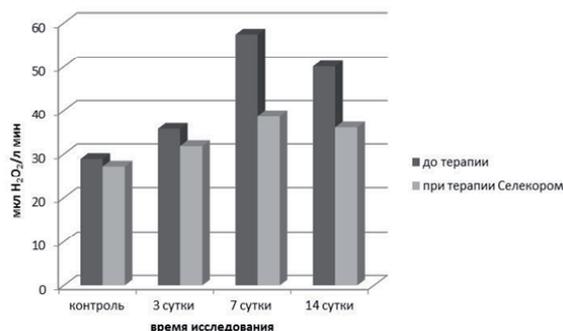


Рис.3. Концентрация каталазы у крыс с аллоксановым диабетом при терапии Селекором

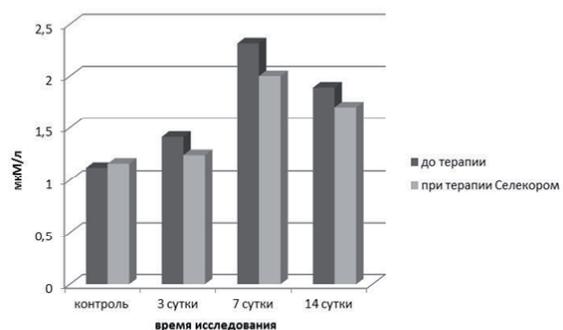


Рис.4. Концентрация МДА у крыс с аллоксановым диабетом при терапии Селекором

64,6% , что свидетельствует о токсическом влиянии аллоксана на все ткани и органы.

Таким образом, свободно – радикальная патология развивается как вследствие нарушения баланса оксидазно-оксигеназных реакций, так и в результате аутоиммунных процессов при сахарном диабете, носит хронический характер и обуславливает истощение АО системы организма.

Следовательно, на основании результатов полученных в данном исследовании подтверждено, что препарат селена обладает антиоксидантной защитой. По литературным данным селеноорганический препарат «Селекор» относится к группе не токсичных препаратов и поэтому может быть предложен для комплексного лечения больным с инсулинзависимым сахарным диабетом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балаболкин М.И. Сахарный диабет / М.И. Балаболкин. — М.: 1994.
2. Бабичев В.Н. Характеристика рецепторов бета – клеток поджелудочной железы, связывающих сульфаниламидные препараты, при экспериментальном сахарном диабете / В.Н. Бабичев, И.П. Савельева, М.И. Балаболкин / Пробл. эндокринолог. — 1996. — Т. 42, №5. — С. 37-39.
3. Горельшева В.А. Перекисное окисление липидов и состояние антиоксидантных ферментов у больных с впервые выявленным ИЗСД : Дис, канд. мед. наук / А.В. Горельшева. — М, 1994.
4. Бобырева Л.Е. Свободнорадикальное окисление, антиоксиданты и диабетические ангиопатии / Л.Е. Бобырева // Пробл. эндокринолог. — 1996. — Т. 42, № 6 — С. 14-20.
5. Терехина Н.А. Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах крыс при аллоксановом диабете / Н.А. Терехина, О.Ю. Хоробрых, Т.П. Хоробрых // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 1998. — № 4. — С. 25–26.
6. Шабунин С.В. Селен (биологические свойства и применение в животноводстве и ветеринарии) / С.В. Шабунин [и др.]. - Воронеж, 2007. — 96 с.

7. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гагишвили // Современные методы в биохимии. — М., Медицина. — 1977. — С. 66-68.
-

Николаевский Владимир Анатольевич — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии фармацевтического факультета Воронежского государственного университета; e-mail: nikolaevsky@pharm.vsu.ru

Nikolaevsky Vladimir A. — doctor of medicine, professor, Department of Pharmacology, Pharmaceutical Faculty, Voronezh State University, Voronezh; e-mail: nikolaevsky@pharm.vsu.ru

Сильченко Анжела Александровна — врач клинико-диагностической лаборатории МУЗ ГБ «Поликлиника № 11», г. Воронеж.

Silchenko Anjela A. — physician of clinical diagnostic laboratory of «Polyclinic № 11», Voronezh

Беляев Василий Иванович — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник отдела фармакологии ГНУ ВНИВИ патологии и терапии Россельхозакадемии,

Beljaev Vasily I. — doctor of biological science, professor, main research associate of All-Russian Research Veterinary Institute for Pathology, Pharmacology and Therapy, Russian Academy of Agricultural Sciences, Voronezh