

ИЗУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГИДРОЛИЗНОГО ЛИГНИНА В КАЧЕСТВЕ СОРБЕНТА ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ

Н. Л. Зобнина, П. И. Цапок

ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России
Поступила в редакцию 16.05.2019 г.

Аннотация. Актуальной задачей, поставленной Правительством РФ перед практическим здравоохранением, является увеличение продолжительности жизни россиян и выявление наиболее распространенных патологий: заболеваний сердечно-сосудистой системы, атеросклероз, сахарный диабет – на ранних стадиях. Причинами развития перечисленных патологий являются не только и не столько изменяющиеся условия окружающей среды, сколько последствия образа жизни человека. Гиподинамия, нарушение пищевого поведения, постоянные психо-эмоциональные стрессы относятся к модифицируемым факторам развития, в то же время атеросклероз, диабет входят в первую десятку наиболее распространенных заболеваний в мире и по прогнозам останутся на своих позициях еще много лет.

Поэтому перед практическим здравоохранением встает вопрос профилактики и лечения не только самого заболевания, но и сопутствующих ему, часто более тяжелых, осложнений. Согласно многочисленным данным, одним из наиболее распространенных патологий в 21 веке стал сахарный диабет. Это заболевание связано с нарушением углеводного обмена и охватывает контингент лиц среднего и молодого возраста. Основной проблемой в терапии диабета является постепенное развитие глюкозотоксичности и сопутствующих ей патологий сосудов и тканей, которые приводят к инвалидизации или преждевременному летальному исходу

Экспериментально изучена адсорбция пировиноградной кислоты как одного из ключевых участников глюконеогенеза в условиях моделей нормального и патологического состояний внутренней среды организма на отечественном препарате на основе гидролизного лигнина.

При показателях, моделирующих состояние нормы, а также характерных для сахарного диабета 2 типа, препарат на основе гидролизного лигнина проявляет сорбционные свойства. Дальнейшее увеличение концентрации вещества при снижении показателя рН раствора приводит к снижению сорбционных свойств

Ключевые слова: пировиноградная кислота, глюконеогенез, глюкозотоксичность, сорбент

Глюкоза является одним из основных субстратов в биохимических реакциях энергообеспечения клеток и тканей организма. Глюконеогенез – естественный механизм восполнения ее запасов при физических нагрузках или голодании [1]. Он является частью многоуровневой нейро-гуморальной системы контроля и поддержания концентрации глюкозы [2], как основного источника энергии для жизнедеятельности клетки. При поступлении углеводов в организм активизируется выработка инсулина β -клетками островков Лангенгарса поджелудочной железы, в результате чего стимулируются процессы утилизации глюкозы путем активизации гликогенеза, липогенеза, гликолиза. В

результате происходит постепенное возвращение уровня глюкозы до начального состояния (или немного ниже) в соответствии с физиологическими параметрами.

Физические нагрузки, голодание, психо-эмоциональные состояния провоцируют наступление гипогликемии, в результате чего активизируются катаболические процессы, приводящие к повышению концентрации глюкозы: гликогенолиз, липолиз, а также биосинтез глюкозы [1-3].

Гиподинамия, неблагоприятные факторы внешней среды, постоянные психо-эмоциональные нагрузки приводят к развитию инсулинорезистентности, т.е. невосприимчивости некоторых клеток к действию инсулина (рис 1.). Т.к. инсу-

линзависимые ткани являются основными «депо» глюкозы [5], то нарушение механизма её запасания, в конечном итоге приводит к активизации процессов образования глюкозы из неуглеводных компонентов. Избыточное количество глюкозы способствует возникновению глюкозотоксичности (рис.2)

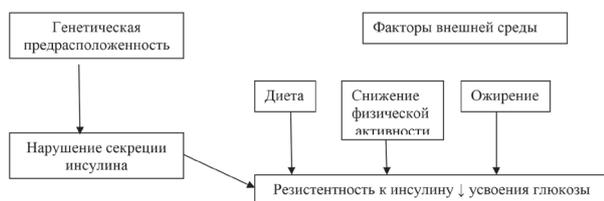


Рис. 1. Механизм возникновения инсулинорезистентности [4].



Рис. 2. Токсический эффект глюкозы [6].

Инсулинорезистентность является общепризнанной причиной развития сахарного диабета 2 типа – одного из самых распространенных заболеваний. По оценкам Государственного регистра РФ и Международного атласа диабета это заболевание в настоящее время занимает 4 место по распространенности в мире, при этом реальное количество превышает статистические данные в 2-4 раза [7, 8].

Как правило, болезнь может протекать бессимптомно и охватывает контингент лиц трудоспособного возраста [9]. Основная проблема, стоящая перед здравоохранением, заключается в том, что терапия направлена не только на нормализацию (компенсацию) углеводного обмена, но и на профилактику и терапию осложнений (табл. 1), кото-

рые являются основной причиной смертности среди больных сахарным диабетом.

В качестве терапии сахарного диабета рекомендован к использованию инсулин, как при лечении СД 1 типа, так и в 40% случаев СД 2 типа [11]. Наряду с этим, используются пероральные препараты, оказывающие сахароснижающий эффект или за счёт снижения абсорбции глюкозы из желудочно-кишечного тракта, или стимуляции работы бета-клеток островков Лангенгарса поджелудочной железы, либо за счет стимуляции усвоения глюкозы инсулинзависимыми тканями [10, 11].

Наиболее перспективной среди перечисленных групп являются препараты, оказывающие тормозящее действие на процессы глюконеогенеза. Это объясняется несколькими причинами. Во-первых, в условиях токсического эффекта глюкозы продукция инсулина постепенно подавляется или наступает вторичная недостаточность инсулина, связанная с модификацией белков-рецепторов. Во-вторых, снижение концентрации глюкозы во внеклеточной жидкости при терапии СД не приводит к торможению реакций глюконеогенеза в гепатоцитах, что также в итоге приведет к развитию токсичности глюкозы.

В настоящее время в терапии СД используется группа препаратов на основе производных бигуанидов, наиболее распространёнными в лечении являются метформин и сиофор. Их эффект основан на снижении всасывания глюкозы энтероцитами, понижении скорости глюконеогенеза в печени и повышении чувствительности рецепторов к инсулину в периферических тканях [10].

В эксперименте нами изучена возможность использования отечественного препарата-энтеросорбента на основе гидролизованного лигнина в качестве сорбента по отношению к одному из основных субстратов глюконеогенеза – пировиноградной кислоте. Вклад этого соединения в норме

Таблица 1

Хронические осложнения сахарного диабета [10]

Орган	Осложнения
Глаза	Катаракта, диабетическая ретинопатия, пролиферативная ретинопатия
Почки	Интракапиллярный гломерулосклероз, пиелонефрит, абсцесс почки, пананефрит
Нервная система	Нейропатия III, IV, VI, VII черепно-мозговых нервов, периферическая полинейропатия, автономная нейропатия. а) постуральная гипотония, б) тахикардия, в) отсутствие потоотделения, г) гастроэнтеронейропатия: гастропарез, диабетическая диарея, д) атония мочевого пузыря, е) импотенция
Кожа	Диабетическая дермопатия («пятнистая голень»), кандидоз, язвы на голенях и стопах (нейротропные и ишемические), диабетическая стопа
Сердечно-сосудистая система	Диабетическая миокардиопатия, ИБС (инфаркт миокарда, аритмии, сердечная недостаточность), гангрена стопы (облитерирующий атеросклероз), ишемические язвы
Кости и суставы	Диабетическая артропатия, контрактура Dupuytren, остеопороз

составляет примерно треть от суточного количества, а при длительном энергетическом голоде, характерном для состояний нарушения углеводного обмена, становится практически стопроцентным.

Гидролизный лигнин как продукт переработки древесины - достаточно распространенный объект исследования и в литературе описано множество возможностей использования его в качестве сорбента как органических, так и неорганических соединений [12-16].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Были приготовлены фосфатные буферные растворы на основе 0.2М растворов дигидрофосфата и гидрофосфата натрия с разными значениями рН: 7.36, 7.34 и 7.30 – как модель плазмы крови. Расчёт количества компонентов, необходимых для приготовления соответствующих буферных растворов, производился на основании уравнения Гендерсона-Гессельбаха. Величина рН приготовленных растворов определялась с помощью прибора «рН-метр-иономер – 001-03».

На основе приготовленных буферных растворов были приготовлены растворы пирувата натрия с концентрациями от 0.01 до 0.04 моль/л для имитации повышения концентрации соединения при развитии сахарного диабета. Масса твердого вещества отмерялась на аналитических весах с точностью до 4 знака после запятой.

В качестве сорбента использовался отечественный препарат на основе гидролизного лигнина «Сорбикум», который до настоящего времени не входит в список рекомендованных препаратов при терапии сахарного диабета, а рекомендуется как профилактическое средство (т.к. стимулирует адсорбцию глюкозы в желудочно-кишечном тракте). Препарат выпускается в таблетированном виде, масса каждой таблетки составляет около 0.4г.

Адсорбент помещался в буферные растворы с разной величиной рН на 1 час.

Количество пировиноградной кислоты в растворе определялось по методу Умбрайт по реакции с 2,4-дифенилгидразином в растворе соляной кислоты.

На основании изменения величины оптической плотности оценивалось изменение концентрации пировиноградной кислоты в растворе, исходя из закона Гугера-Ламберта-Бэра.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из приведенных рисунков видно, что во всех случаях наблюдается снижение величины оптической

плотности растворов, что свидетельствует об адсорбции растворенного вещества.

Как следует из рис. 3, в буферном растворе, имитирующем физиологическое значение рН крови, сорбент на основе гидролизного лигнина проявляет высокую сорбционную способность в диапазоне физиологической концентрации пировиноградной кислоты (0 – 0.01 моль/л), о чем свидетельствует снижение показателя оптической плотности растворов.

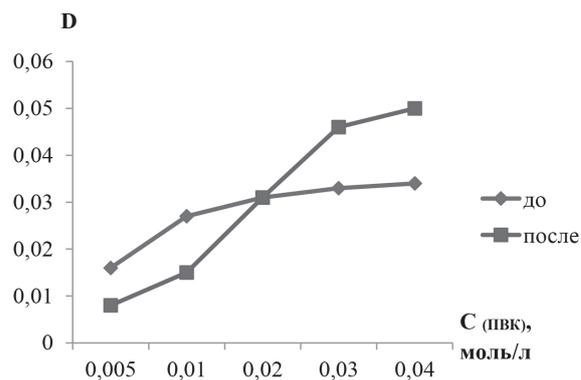


Рис. 3. Изменение оптической плотности растворов пировиноградной кислоты в буферном растворе рН = 7.36

При дальнейшем увеличении концентрации пировиноградной кислоты сорбционная способность снижается, что может быть связано с особенностями поверхностного взаимодействия (наличием отрицательно заряженных групп на поверхности) или насыщением активных центров сорбента.

Однако при увеличении концентрации сорбента в полтора раза сорбционная способность препарата сохраняется (рис. 4).

При дальнейшем увеличении концентрации пировиноградной кислоты и уменьшении значения рН (рис. 5 и 6.), что имитирует нарастание

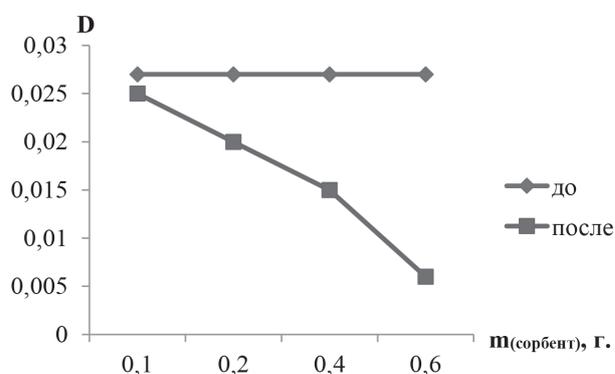


Рис. 4. Изменение оптической плотности 0.01М раствора пировиноградной кислоты в фосфатном буферном растворе с рН = 7.36

процессов образования субстратов глюконогенеза, сорбционная способность препарата сохраняется, о чем свидетельствует снижение оптической плотности раствора. Как следует из рис 5, повышению эффективности адсорбции способствует увеличение количества сорбента в полтора раза (до 0.6г).

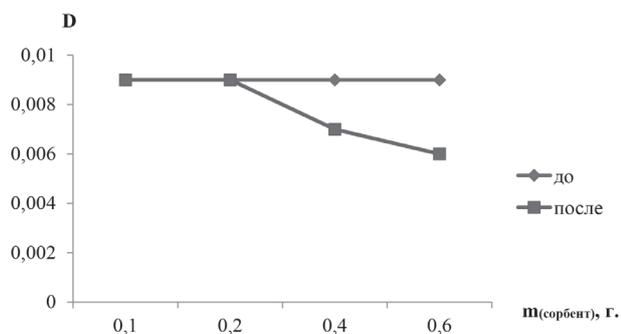


Рис. 5. Изменение оптической плотности 0.02M растворов пировиноградной кислоты в буферном растворе pH = 7.34

В случае величины pH, соответствующей состоянию ацидоза (рис. 6), сорбционная активность препарата проявляется только в случае избыточного его количества

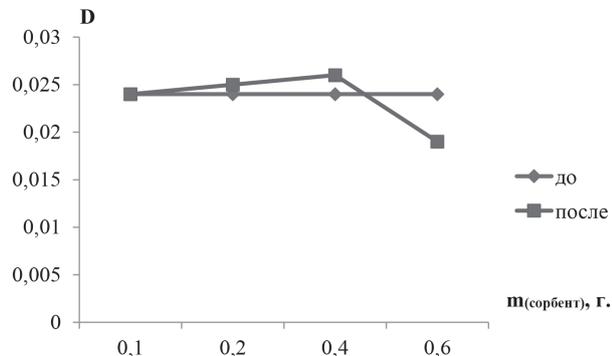


Рис. 6 Изменение оптической плотности 0.04 M растворов пировиноградной кислоты в буферном растворе pH = 7.30

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сахарный диабет в настоящее время входит в первую десятку распространенных заболеваний в мире. Причиной этой болезни являются не столько генетические нарушения, сколько последствия образа жизни пациентов, приводящие к развитию болезни и опосредованно — к генетическим нарушениям синтеза инсулина у последующих поколений. Выявление данной патологии на ранних стадиях затрудняется тем, что болезнь протекает бессимптомно или терапия сводится к лечению последствий нарушения обмена, тогда как причина

нарушения устанавливается или случайно, или уже на стадии существенных изменений в организме.

В основе всех патологических явлений при сахарном диабете 1 и наиболее распространенного 2 типа, лежит явление глюкозотоксичности. Поэтому наиболее перспективными являются препараты, которые либо тормозят экспрессию генов контринсулярных гормонов (что часто затруднено низкой активностью клеток поджелудочной железы), либо способствуют выведению субстратов глюконогенеза и таким образом снижают его скорость.

Препарат на основе гидролизованного лигнина можно рассматривать как перспективное терапевтическое средство при сахарном диабете 2 типа, поскольку при данном типе заболевания крайне редко наблюдается сдвиг pH плазмы в сторону уменьшения (явление ацидоза) [1, 2, 10] и в качестве дополнительного терапевтического средства при гестационном сахарном диабете.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биохимия. Учебник, под ред. Е.С. Северина — 2-е изд., испр. Москва, ГЭОТАР-МЕД, 2004, 784 с.
2. Комов В.П., Шведова В.Н. Биохимия: учебник для академического бакалавриата — 4-е изд, испр. и доп. Москва, Издательство Юрайт, 2015. 640 с.
3. Кольман Ян, Рем К-Г. Наглядная биохимия. Пер. с нем., Москва, Мир, 2000. 469 с.
4. Порт К.М. Патофизиология: основы. под ред. Г.В. Порядина. Москва, Эксмо, 2011. 1168 с.
5. Титов Н.В. //Успехи современной биологии. 2012. Т. 132. № 1. С. 51-68.
6. Кроненберг Г.М., Мелмед Ш., Полонски К.С., Ларсер П. Рид. Пер. с англ. под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. Москва, ООО «Рид Элсивер», 2010, 448 с.
7. Государственный регистр сахарного диабета РФ: статус 2015 и данные исследований с активным скринингом модуля «Диабет-центр».
8. Диабетический атлас IDF, 8-е издание, 2017, 150 с.
9. Заборовская, З.В. Сахарный диабет 2 типа. Распространенность, этнические особенности, этиопатогенез. Минск, 2006, С. 3-43.
10. Благосклонная Я.В., Шляхто Е.В., Бабенко А.Ю. Эндокринология: учебник для медицинских вузов. 2-е изд. испр и доп. Санкт-Петербург, СпецЛит, 2007, 400 с.
11. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Эндокринология. Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2009, 432 с.

12. Минаевская Л.В., Щеголихина Н.А. // Известия высших учебных заведений. Серия «Химия и химическая технология». 2012. Т. 55. № 10. С. 114-116.

13. Минаевская Л.В., Щеголихина Н.А. «Успехи синтеза и комплексообразования», тезисы докладов Третьей Всероссийской научной конференции (с международным участием), 21–25 апреля 2014 г., Москва, 2014, С. 201.

ФГБОУ ВО Кировский государственный медицинский университет

Зобнина Н. Л., старший преподаватель кафедры химии

e-mail:telec205@mail.ru

Цапок П. И., доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой химии

14. Рачкова Н.Г. // Вестник института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН. 2004. Т. 94. № 8. С. 8- 12.

15. Тунакова Ю.А., Мухаметшина Е.С., Шмакова Ю.А. // Вестник Казанского технологического университета. 2011. № 9. С. 74-79.

16. Зобнина Н.Л., Цапок П.И. // Вятский медицинский вестник. 2015. № 2. С. 48-51.

FSBEI HE Kirov State Medical University

Zobnina N. L., senior lecturer, Department

Chemistry

e-mail:telec205@mail.ru

Tsapok P. I., PhD., M.D., Full Professor, head of Department Chemistry

THE STUDY OF THE DRUG ON THE BASIS OF HYDROLYSIS LIGNIN AS A SORBENT OF PYRUVIC ACID

N. L. Zobnina, P. I. Tsapok

FSBEI HE Kirov SMU MOH Russia

Abstract. An urgent task set by the Government of the Russian Federation to practical health care is to increase the life expectancy of Russians and to identify the most common pathologies: diseases of the cardiovascular system, atherosclerosis, diabetes mellitus-in the early stages. The causes of these pathologies are not only and not so much changing environmental conditions, as the consequences of human lifestyle. Physical inactivity, eating disorders, constant psycho-emotional stress are modifiable factors of development, at the same time, atherosclerosis, diabetes are among the top ten most common diseases in the world and are projected to remain in their positions for many years.

Therefore, the practical health care raises the question of prevention and treatment of not only the disease itself, but also its attendant, often more severe, complications. According to numerous data, one of the most common pathologies in the 21st century was diabetes. This disease is associated with a violation of carbohydrate metabolism and covers a contingent of middle-aged and young people. The main problem in the treatment of diabetes is the gradual development of glucose toxicity and associated pathologies of blood vessels and tissues, which lead to disability or premature death

The adsorption of pyruvic acid as one of the key participants in gluconeogenesis was studied experimentally under the conditions of models of normal and pathological conditions of the internal environment of the body on a domestic preparation based on hydrolytic lignin.

With indicators that simulate the state of the norm, as well as characteristic for type 2 diabetes mellitus, a drug based on hydrolytic lignin exhibits sorption properties. A further increase in the concentration of the substance with a decrease in the pH of the solution leads to a decrease in sorption properties

Keywords: pyruvic acid, gluconeogenesis, glucose toxicity, sorbent

REFERENCES

1. Biohimiya. Uchebnik. pod red. E.S. Severina. Moscow, GEOTAR-MED, 2004. 784 p.

2. Komov V.P., Shvedova V.N. Biohimiya. Moscow, Yurait, 2015. 640 p.

3. Kolman Y. Naglyadnaya biohimiya. Moscow, Mir, 2000. 469 p.

4. Port K.M. Pathophysiology: bases (Russ ed. Port K.M. Patophysiologya: osnovy. pod red. Poryadina G.V. Moskva, Eksmo, 2011. 1168 p.

5. Titov N.V., Uspekhi sovremennoi biologii. 2012. Vol. 132. No. 1, pp. 51-68. DOI: 10.15690/vramn.v67i4.202.
6. Kronenberg G.M., Melmed Sh., Polonski K.S., Larsen P. Rid. Per. s angl. pod red. I.I. Dedova, G.A. Mel'nichenko. Moskva, OOO «Rid Elsiver», 2010, 448 p.
7. Gosudarstvenniy registr saharnogo diabeta RF: status 2015 i dannye issledovaniy s aktivnym skrinningom modulya "Diabet-centr"
8. Diabetichesky atlas IDF, 8th ed., 2017, 150 p.
9. Zaborovskaya Z.V. Diabetes mellitus type 2. Prevalence, ethnic features, etiopathogenesis. Minsk, 2006. pp. 3-43.
10. Blagosklonnaya Ya.V., Shlyakhto E.V., Babenko A.Yu. Endokrinologiya: uchebnik dlya meditsinskikh vuzov. 2-e izd. ispr i dop. Sankt-Peterburg, SpetsLit, 2007, 400 p.
11. Dedov I.I., Melnichenko G.A., Fadeev V.V. Endokrynologiya. Moskva, GEOTAR-Media, 2009. 432 p.
12. Minaevskaya L.V., Shchegolikhina N.A., Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Seriya «Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya». 2012, Vol. 55, No 10, pp. 114-116.
13. Minaevskaya L.V., Shchegolikhina N.A. «Uspekhi sinteza i kompleksobrazovaniya», tezisyy dokladov Tret'ei Vserossiiskaya nauchnoi konferentsiya (s mezhdunarodnym uchastiem), April 21-25, 2014, Moskva, 2014, pp. 201.
14. Rachkova N.G., Bulletin of the Institute of biology of Komi scientific center of the Ural branch of RAS, 2004, Vol.94, No. 8, pp. 8-12.
15. Tunakova Yu.A., Mukhametshina E.S., Shmakova Yu.A., Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta. 2011. No. 9. pp. 74-79.
16. Zobnina N.L., Tsapok P.I., Vyatka medical bulletin, 2015, No. 2, pp. 48-51.