

Rybak V A, Maloshtan L N. Изучение влияния густого экстракта фасоли на показатели углеводного обмена у интактных животных и у животных со стрептозотоциновым диабетом = The influence of the beans extract on carbohydrate metabolism on a rat model of streptozotocin diabetes. *Journal of Health Sciences*. 2014;4(15):157-164. ISSN 1429-9623 / 2300-665X.

<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/article/view/2014%3B4%2815%29%3A157-164>

<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2014%3B4%2815%29%3A157-164>

<https://pbn.nauka.gov.pl/works/533941>

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).

© The Author (s) 2014;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Radom University in Radom, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 15.11.2014. Revised 05.12.2014. Accepted: 25.12.2014.

УДК 615.25.252.349.7:615.451.16:582.894.6

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ФАСОЛИ НА ПОКАЗАТЕЛИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ И У ЖИВОТНЫХ СО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫМ ДИАБЕТОМ

THE INFLUENCE OF THE BEANS EXTRACT ON CARBOHYDRATE METABOLISM ON A RAT MODEL OF STREPTOZOTOCIN DIABETES

В. А. РЫБАК, Л. Н. МАЛОШТАН

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

V A RYBAK, L N MALOSHTAN

The National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine

Резюме

Изучено влияние густого экстракта фасоли (ГЭФ) на показатели углеводного обмена у интактных животных и у животных со стрептозотоциновым диабетом. Установлено, что ГЭФ не оказывал существенного влияния на показатели углеводного обмена – гликогенообразовательную функцию печени, гликолиз и глюконеогенез у интактных животных по сравнению с контролем. На фоне лечения ГЭФ животных со стрептозотоциновым диабетом наблюдалась нормализация углеводного обмена за счет восстановления гликогенообразовательной функции печени и гликолиза, нормализации гексокиназной реакции, а также снижения глюконеогенеза в печени. ГЭФ является перспективным фитопрепаратом для коррекции углеводного обмена при метаболическом синдроме и СД 2-го типа за счет проявления инсулиноподобного действия.

Ключевые слова: стрептозотоциновый диабет, гликоген, гексокиназа, глюкозо-6-фосфатаза, фруктозо-1,6-дифосфатаза, метформин, густой экстракт фасоли.

Abstract

The effect of the bean extract (TBE) on carbohydrate metabolism in the intact animals and in the animals of streptozotocin-induced diabetes model has been studied. It has been established that a thick TBE had no significant influence on carbohydrate metabolism – glycogen-producing liver function, glycolysis and gluconeogenesis in the normal animals compared to the control ones. The normalization of carbohydrate metabolism due to the recovery of glycogen-producing liver function and glycolysis, the normalization of

hexokinase reaction, as well as hepatic gluconeogenesis reductions have been observed in streptozotocin-induced animal models of diabetes during the treatment to the animals with a thick TBE. TBE is a promising phytopreparation for the correction of carbohydrate metabolism in the metabolic syndrome and diabetes type 2 due to the manifestations of an insulin action.

Keywords: streptozotocin diabetes, glycogen, hexokinase, glucose-6-phosphatase, fructose-1,6-diphosphatase, metformin, thick bean extract.

Организация Объединенных Наций определила сахарный диабет (СД) как хроническое, подрывающее здоровье и дорогостоящее заболевание, сопряженное с тяжелыми осложнениями, несущее серьезную угрозу семьям, странам и миру в целом, представляющее существенное препятствие на пути достижения согласованных мировым сообществом целей развития.

По заболеваемости СД достиг масштабов глобальной эпидемии, повлекшей огромные человеческие, социальные и экономические потери. На сегодняшний день в мире насчитывается свыше 366 млн. больных СД [1].

Печень играет значительную роль в обмене углеводов, осуществляет процессы глюконеогенеза и постоянно обеспечивает мозг глюкозой. Существуют многочисленные данные о нарушении функции печени у больных СД. Считают, что печень разрушает гликоген при помощи специального фермента инсулиназы, осуществляет процессы, обуславливающие развитие осложнений СД, а именно ожирение, ретино-, нейро- и нефропатии, сердечно-сосудистые заболевания [2, 3].

Критерием, характеризующим состояние метаболизма углеводов, является определение активности ключевых ферментов гликолиза и глюконеогенеза – процессов, нарушающихся в первую очередь при инсулиновой недостаточности (ИН) [4]. В регуляции гликолиза и глюконеогенеза большую роль играет инсулин. При недостаточном содержании инсулина развивается СД, сопровождающейся гипергликемией, глюкозурией и уменьшением содержания гликогена в печени [5]. Печень утрачивает способность утилизировать глюкозу крови. В печени, при общем снижении интенсивности биосинтетических процессов (синтез белков, жирных кислот из продуктов распада глюкозы) наблюдается усиление синтеза ферментов глюконеогенеза [6].

При введении инсулина больным СД происходит коррекция метаболических изменений – нормализуется проницаемость мембран клеток печени для глюкозы, восстанавливается соотношение между гликолизом и глюконеогенезом. Инсулин

контролирует эти процессы на генетическом уровне как индуктор синтеза ключевых ферментов гликолиза: гексокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы, а также индуцирует синтез гликогенсинтазы. Одновременно инсулин действует как репрессор синтеза ключевых ферментов глюконеогенеза. Индукторами синтеза ферментов глюконеогенеза служат глюкокортикоиды. В связи с этим, при ИН и сохраненной или повышенной секреции кортикостероидов (особенно при СД), устранение влияния инсулина приводит к резкому повышению синтеза и концентрации ферментов глюконеогенеза, особенно фосфоенолпируват-карбоксикиназы, что определяет возможность и скорость глюконеогенеза в печени и почках [7].

Развитие СД отрицательно сказывается на функциональном состоянии печени, приводит к нарушению обмена белков, жиров и других веществ в гепатоцитах, что обуславливает развитие хронических заболеваний печени [8].

Несмотря на достаточно широкий арсенал современных антидиабетических средств, проблема реальной компенсации СД 2-го типа остается нерешенной, что обосновывает поиск и создание новых, эффективных и одновременно малотоксичных антидиабетических средств, которые объединяют в своей фармакодинамике несколько видов активностей.

Целью исследования явилось изучение влияния густого экстракта фасоли (ГЭФ) на показатели углеводного обмена у интактных животных и у животных со стрептозотоциновым диабетом.

Материалы и методы исследования

Учитывая клиническую и патогенетическую гетерогенность СД, поиск новых эффективных гипогликемических препаратов необходимо проводить с учетом экспериментально-биологических моделей, отражающих основные звенья диабетогенеза у человека.

Экспериментальные исследования по изучению влияния ГЭФ на показатели углеводного обмена (гликогенообразовательную функцию печени, гликолиз и глюконеогенез) были проведены в две серии. В первой серии исследований изучали показатели углеводного обмена у интактных животных, а во второй – у животных со стрептозотоциновым диабетом с одновременным введением никотинамида. В основе создания модели инсулиннезависимого СД лежит частичная защита панкреатических бета-клеток от цитотоксического действия стрептозотоцина при помощи соответствующих доз никотинамида. Стрептозотоцин – антибиотик (2-дезоксид-2-метилнитрозамино-карбонил-амино-D-глюкопираноза), оказывающий специфический

эффект на панкреатические бета-клетки. Вероятно, фрагмент нитрозомочевины отвечает за токсическое действие препарата, а 2-дезоксиглюкоза – за селективность эффекта по отношению к бета-клеткам [9].

Никотиномид вводили внутрибрюшинно в дозе 230 мг/кг массы тела крысам линии Вистар за 15 мин до внутривенной инъекции стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг, что приводило к умеренной и стабильной базальной гипергликемии и 40% сохранению запасов панкреатического инсулина [10].

После моделирования диабета и лечения животных метформином и ГЭФ, крыс декапитировали, проводили частичную гепатэктомию (методом Хиггинса-Андерсона), определяли в печени количество гликогена (методом Крисмана), ключевых ферментов: гликолиза – гексокиназу (энзиматическим методом); глюконеогенеза – глюкозо-6-фосфатазу (методом Свенсона) и фруктозо-1,6-дифосфатазу (методом Пейкит и Поуджел) [11, 12, 13].

Активность фермента выражали в мкмоль НАДФН⁺ в расчете на 1 г ткани за одну мин действия фермента.

Все животные (массой 200-250 г) двух серий исследований были разделены на 3 группы (по 7 в каждой). Животные 1 группы (контроль) – внутрижелудочно получали эквивалентное количество питьевой воды, 2 группы – препарат сравнения метформин в дозе 30 мг/кг, а 3 группы – ГЭФ в дозе 40 мг/кг.

Исследования проводили в соответствии с требованиями комиссии по биоэтике и «Общих этических принципов экспериментов на животных» (Киев, 2001), что соответствует положениям «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, что используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985) [9]. Статистическую обработку полученных результатов проводили методами дисперсионного анализа при помощи программы «Statistica, v.6,0».

Результаты и их обсуждение

Моделирование стрептозотоцинового диабета у животных позволяет воспроизвести главные патогенетические признаки СД 2-го типа у человека, а именно – нарушение секреции и действия инсулина имеет определенные преимущества для исследования сахароснижающего эффекта новых препаратов с разным механизмом действия [14].

В связи с дефицитом глюкозы в клетках диабетических животных уменьшается количество гликогена в печени в 2,1 раза по сравнению с интактным контролем (табл. 1).

Содержание гликогена в печени резко снижается на высоте развития диабета в сравнении с интактным контролем и существенно повышается после введения метформина и ГЭФ.

Таблица 1

Влияние густого экстракта фасоли (ГЭФ) на количественное содержание гликогена в печени у крыс (n=7)

№ п/п	Группы животных	Гликоген в печени (в мг на 1 г ткани)
Интактные животные		
1.	Контроль	23,5±0,42
2.	Метформин (30 мг/кг)	26,9±0,39**
3.	ГЭФ (40 мг/кг)	28,4±0,77**
Диабетические животные		
1.	Контроль	11,3±0,12*
2.	Метформин (30 мг/кг)	18,0±0,16*/***
3.	ГЭФ (40 мг/кг)	19,9±0,23*/***/****

Примечание: * – $p_1 < 0,001$; ** – $p_1 < 0,01$ – достоверно по отношению к интактному контролю; *** – $p_2 < 0,001$ – достоверно по отношению к диабетическому контролю; **** – $p_3 < 0,001$ – достоверно по отношению к метформину.

Препарат сравнения – метформин достоверно повышал уровень гликогена в печени в 1,1 раза, а ГЭФ – в 1,2 раза соответственно в сравнении с интактным контролем.

Лечение диабетических животных ГЭФ повысило уровень гликогена в печени в 1,8 раза соответственно и приближалось к показателям интактного контроля, а метформином – в 1,6 раза соответственно в сравнении с диабетическим контролем.

Введение интактным животным препарата сравнения – метформина и ГЭФ не привело к значительным изменениям гексокиназной активности.

В лечении диабетических животных ГЭФ значительно повышал гексокиназную активность в 3,1 раза, а метформин – в 2,5 раза соответственно в сравнении с диабетическим контролем (табл. 2).

Результаты исследований показали, что ГЭФ нормализует гексокиназную реакцию, сопровождающуюся снижением процессов фосфорилирования глюкозы в печени у диабетических животных, а также восстанавливает уровень гексокиназы к показателю у интактного контроля.

При изучении влияния метформина и ГЭФ на изменение ключевых ферментов глюконеогенеза установлено, что показатели активности глюкозо-6-фосфатазы и фруктозо-1,6-дифосфатазы существенных отличий от показателей интактных животных не имели.

У диабетических животных наблюдалось увеличение активности глюкозо-6-фосфатазы в 2,1 раза и фруктозо-1,6-дифосфатазы в 2,3 раза по сравнению с интактным контролем в связи с дефицитом инсулина.

Таблица 2

Влияние густого экстракта фасоли (ГЭФ) на изменение ключевых ферментов гликолиза и глюконеогенеза в печени у крыс (n=7)

№ п/п	Группы животных	Активность ферментов		
		Гексокиназа	Глюкозо-6- фосфатаза	Фруктозо-1,6- дифосфатаза
		в мкМ НАДФН ₂ на 1 г ткани за 1 мин	в мкМ Рн на 1 г ткани за 1 мин	
Интактные животные				
1.	Контроль	0,54±0,011	3,21±0,005	4,00±0,007
2.	Метформин (30 мг/кг)	0,47±0,017***	3,37±0,003*	4,08±0,017**
3.	ГЭФ (40 мг/кг)	0,42±0,007*	3,43±0,004*	4,15±0,018*
Диабетические животные				
1.	Контроль	0,19±0,009*	6,74±0,011*	9,26±0,006*
2.	Метформин (30 мг/кг)	0,48±0,007**/****	5,30±0,006*/ ****	5,39±0,008*/ ****
3.	ГЭФ (40 мг/кг)	0,59±0,009**/****/ *****	3,31±0,009*/ ****/*****	4,12±0,009*/ ****/*****

Примечание: * – $p_1 < 0,001$; ** – $p_1 < 0,01$; *** – $p_1 < 0,05$ – достоверно по отношению к интактному контролю; **** – $p_2 < 0,001$ – достоверно по отношению к

диабетическому контролю; ***** – $p_3 < 0,001$ – достоверно по отношению к метформину.

Лечение диабетических животных ГЭФ свидетельствовало о выраженном снижении активности глюкозо-6-фосфатазы в 2,0 раза, а фруктозо-1,6-дифосфатазы в 2,2 раза соответственно в сравнении с животными диабетического контроля. Метформин проявил менее выраженную активность, чем ГЭФ, что проявлялась снижением активности глюкозо-6-фосфатазы в 1,3 раза, а фруктозо-1,6-дифосфатазы в 1,7 раза соответственно в сравнении с животными диабетического контроля.

Выводы

Таким образом, ГЭФ не оказывал существенного влияния на показатели углеводного обмена – гликогенообразовательную функцию печени, гликолиз и глюконеогенез у интактных животных по сравнению с контролем.

На фоне экспериментального диабета, индуцированного стрептозотоцином, ГЭФ нормализовал образование гликогена в печени у животных до уровня, приближающегося к показателям интактного контроля; способствовал повышению гексокиназной реакции и преобладал над действием препарата сравнения – метформина в 1,2 раза, а также влиял на глюконеогенез – снижал уровень маркерных ферментов – глюкозо-6-фосфатазы в 1,6 раза и фруктозо-1,6-дифосфатазы в 1,3 раза по сравнению с метформином.

Следовательно, ГЭФ является перспективным фитопрепаратом для коррекции углеводного обмена при метаболическом синдроме и СД 2-го типа за счет проявления инсулиноподобного действия.

References

Литература

1. Всемирный день диабета – 2013 в Украине: курс на диабетологическое просвещение и профилактику // Український медичний часопис. – 2013. – № 6 (98). – С. 20-21.
2. Білки, що зв'язують інсулін та контррецепторні білки сироватки крові хворих на цукровий діабет і здорових людей (огляд літератури та власні дані) / В.В. Корпачев, Н.М. Туріна, С.В. Мельниченко та ін. // Ендокринологія. – 2004. – Т. 9, № 2. – С. 221-235.

3. Левицький А.П. Роль дисбіозу в розвитку порушень стану печінки щурів за умов алоксанового діабету // А.П. Левицький, Ю.В. Цісельський. О.Ю. Білик // Одеський медичний журнал. – 2012. – № 3 (13). – С. 11-14.
4. Городецкий В.Н. Патофизиология углеводного обмена (лекция) / В.Н. Городецкий // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 2. – С. 25-32.
5. New lessons in the regulation of glucose metabolism taught by the glucose 6-phosphatase system / G. Van de Were, A. Lange, C. Newgard [et al.] // Eur. J. Biochem. – 2000. – Vol. 267. – № 6. – P. 1533-1549.
6. Cefalu W.T. Steps Toward the Meaningful Translation of Prevention strategies for Type 2 Diabetes // Diabetes Care. – 2012/ - Vol. 35. – P. 663-665.
7. Roadbard H.W. Diabetes screening, diagnosis, and therapy in pediatric patients with type 2 diabetes [online exclusive article] // Medscape J. Med. – 2008. – № 10. – P. – 184 (Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2562149>).
8. Родионова Л.И. Функциональное состояние печени при нарушениях углеводного обмена / Л.И. Родионова, О.О. Басиева // Российские медицинские вести. – 2007. – Т. 12, № 2. – С. 74-79.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. НАМН України О.В. Стефанова.- К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
10. Development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide [Text] / P. Masiello, C. Broca, R. Gross [et al.] // Diabetes. – 1998. – V. 47, 2. – P. 224-229.
11. Донченко Е.О. Новый методический подход к определению концентрации гликогена в тканях и некоторые комментарии по интерпретации результатов / Е.О. Донченко, А.А. Чиркин // Судебно-медицинская экспертиза. – 2010. – № 3. – С. 25-28.
12. Swansson M. Glucose-6-phosphatase from liver / M. Swansson // J. Biol. Chem. – 1950. – V. 184, № 2. – P. 647-652.
13. Paketa R., Pagell B.J. Fructosodiphosphatase in liver in studied rats / R. Paketa, B.J. Pagell // J. Biol. Chem. – 1965. – V. 240, № 2. – P. 651-662.
14. Klinkhammer C. Specific immunity to streptozotocin. Cellular requirements for induction of lymphoproliferation [Text] / C. Klinkhammer, P. Popowa H. Gleichmann // Diabetes. – 1988. – V. 37, № 1. – P. 74-80.