

Rybak V A, Maloshtan L N, Poltorak V V, Gladkih A I. Изучение гиполлипидемических, антиатерогенных и антигипертензивных эффектов биофлавоноидного комплекса из фасоли на модели экспериментального сахарного диабета 2-го типа на фоне ожирения = The study of lipid-lowering, anti-atherogenic and antihypertensive effects of the bioflavonoid beans complex on the model of the experimental type 2 diabetes mellitus against the background of obesity. Journal of Health Sciences. 2014;4(16):73-82. ISSN 1429-9623 / 2300-665X.

<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/article/view/2014%3B4%2816%29%3A73-82>

<https://pbn.nauka.gov.pl/works/535582>

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.

ИЗУЧЕНИЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИХ, АНТИАТЕРОГЕННЫХ И АНТИГИПЕРТЕНЗИВНЫХ ЭФФЕКТОВ БИОФЛАВОНОИДНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ФАСОЛИ НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА НА ФОНЕ ОЖИРЕНИЯ

THE STUDY OF LIPID-LOWERING, ANTI-ATHEROGENIC AND ANTIHYPERTENSIVE EFFECTS OF THE BIOFLAVONOID BEANS COMPLEX ON THE MODEL OF THE EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES MELLITUS AGAINST THE BACKGROUND OF OBESITY

В. А. Рыбак¹, Л. Н. Малоштан², В. В. Полторак³, А. И. Гладких³
V A Rybak¹, L N Maloshtan², V V Poltorak³, A I Gladkih³

¹Кафедра биологии, Национального фармацевтического университета, Харьков, Украина

²Кафедра физиологии и анатомии человека, Национального фармацевтического университета, Харьков, Украина

³Отдел экспериментальной эндокринологии ГИ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», Харьков

¹The Department of Biology, The National Pharmaceutical University, Kharkov, Ukraine

²The Department of Human Physiology and Anatomy, The National Pharmaceutical University, Kharkov, Ukraine

³The Department of Experimental Endocrinology, Si «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of NAMS of Ukraine», Kharkov, Ukraine

Резюме

Изучены гиполлипидемические, антиатерогенные и антигипертензивные эффекты биофлавоноидного комплекса из фасоли на модели СД 2-го типа на фоне ожирения у крыс. Установлено, что длительное применение (в течение месяца) в лечении животных с СД 2-го типа биофлавоноидного комплекса из фасоли способствовало снижению концентрации в сыворотке крови: триглицеридов, свободных жирных кислот, проатерогенных ХС ЛПНП, общего холестерина и нормализации концентрации ХС ЛПВП, а также снижению показателей систолического и диастолического артериального давления. Биофлавоноидный комплекс из фасоли проявил гиполлипидемический эффект, приближавшийся к действию метформина, а также выраженный антиатерогенный и антигипертензивный эффекты, превышающие действие метформина. Таким образом, биофлавоноидный комплекс из фасоли может быть перспективным лекарственным средством для терапии пациентов с СД 2-го типа со склонностью к ожирению.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, ожирение, метформин, биофлавоноидный комплекс из фасоли.

Abstract

We have studied the lipid-lowering, anti-atherogenic and anti-hypertensive effects of the bioflavonoid beans complex on the model of type 2 diabetes mellitus on a background of obesity in the rats. It has been found that a long-term use (within a month) in the treatment of the animals with type 2 diabetes the bioflavonoid beans complex has helped to reduce the serum concentrations of triglyceride, free fatty acids, pro-atherogenic LDL-cholesterol, total cholesterol and normalization of HDL cholesterol concentration, and reduction in systolic and diastolic blood pressure. The bioflavonoid beans complex has showed a lipid-lowering effect, approaching the effects of metformin and also pronounced antiatherogenic and antihypertensive effects, that was over the action of metformin. Thus, the bioflavonoid beans complex may be a promising remedy for the treatment of the patients type 2 diabetes mellitus and a tendency to obesity.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, obesity, metformin, bioflavanoid beans complex.

Ожирение является одной из наиболее важных проблем для миллионов людей и здравоохранения в целом в связи с высокой распространенностью в большинстве стран мира и ранней инвалидизацией этой категории пациентов. Ожирение является одновременно и социальной проблемой, так как отрицательно сказывается на работоспособности и продолжительности жизни людей. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила, что ожирение превратилось в глобальную эпидемию и представляет серьезную угрозу для общественного здоровья в связи с широкой распространенностью (почти 300 миллионов человек в мире) и повышенным риском развития таких массовых заболеваний, как артериальная гипертензия, сахарный диабет (СД) 2-го типа, атеросклероз и ишемическая болезнь сердца [1].

Среди факторов, которые достоверно увеличивают риск проявлений и прогрессирования СД 2-го типа эксперты ВОЗ ставят на первое место энергетически избыточное питание (переедание), ведущее к ожирению. В среднем у 85% больных СД 2-го типа имеет место ожирение, а снижение веса улучшает измененные при заболевании показатели: уменьшает уровни общего холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ), повышает уровни ХС липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), снижает артериальное давление (АД) и уровни глюкозы, а также уменьшает инсулинорезистентность [2, 3].

При декомпенсированном диабете в плазме крови возрастает концентрация свободных жирных кислот (СЖК), ТГ и ХС. Повышение содержания СЖК обусловлено их усиленным выходом из жировых депо, так как скорость синтеза новых жирных кислот при дефиците инсулина снижена. Усиление липолиза обусловлено выпадением тормозного влияния инсулина на гормончувствительную липазу жировой ткани.

Снижение утилизации глюкозы приводит к уменьшению содержания глицерол-3-фосфата, необходимого для реэстерификации жирных кислот в жировой ткани. Гипертриглицеридемия при диабете связана с падением активности липопротеиновой липазы сосудистого эндотелия. Повышается и синтез ТГ, обусловленный усиленным притоком в печень СЖК, что увеличивает образование липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Несмотря на снижение синтеза жирных кислот, при СД может иметь место жировая инфильтрация печени. Гиперхолестеринемия не является постоянным критерием СД, но может служить одним из факторов, ускоряющих развитие атеросклероза [1, 2].

Среди причин формирования атеросклероза у пациентов СД 2-го типа выделяют количественные и качественные изменения липопротеинов. Из количественных изменений наиболее характерны гипертриглицеридемия и уменьшение уровня ХС ЛПВП, а из качественных изменений – образование маленьких плотных частиц ЛПНП.

Гипертриглицеридемия является ключевой характеристикой диабетической дислипидемии при СД 2-го типа, что связано с увеличенным количеством очень низкоплотных частиц ЛПОНП и способностью оказывать атерогенные и тромбогенные эффекты за пределами ее вклада в атерогенный липидный профиль [4].

Многочисленные исследования, показывают, что лекарственная терапия, направленная на нормализацию показателей липидного спектра крови у пациентов с СД, снижает частоту развития сердечно-сосудистых заболеваний и смертность.

Таким образом, целью исследования было изучение гиполипидемических, антиатерогенных и антигипертензивных эффектов биофлавоноидного комплекса из фасоли на модели СД 2-го типа на фоне ожирения у крыс.

Материалы и методы

Моделирование СД 2-го типа на фоне ожирения у половозрелых шестимесячных самцов-крыс популяции Вистар (n=21), массой 150-170 г, проводили путем внутрибрюшинного введения низкой дозы стрептозотоцина (30 мг/кг, на цитратном буфере pH=4,5) после трехмесячного содержания животных на комбинированной диете (высокожировой рацион питания и чрезмерное употребление углеводов – свободный доступ животных к раствору фруктозы в концентрации 200 г/л) [5, 6].

Экспериментальные исследования проведены 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) [7].

Все экспериментальные животные были разделены на четыре группы. Животные 1-й группы (интактный контроль) внутрижелудочно получали эквивалентное количество питьевой воды, 2-й группы (диабет+плацебо) – 3-5% водную эмульсию Твина-80, 3-й группы – метформин, а 4-й группы – биофлавоноидный комплекс из фасоли.

Начиная с 95 дня исследования, животным с экспериментальным СД 2-го типа на фоне ожирения вводили перорально (два раза в день) на протяжении месяца биофлавоноидный комплекс из фасоли в дозе 40 мг/кг и препарат сравнения метформин в дозе 50 мг/кг.

В качестве референс-препарата был выбран метформин (диаформин, табл. 0,5 г) производства ОАО «Фармак», Украина в пересчете на животное [8].

Липидный обмен у животных с СД 2-го типа на фоне ожирения исследовали по показателям концентрации: свободных жирных кислот (СЖК) в сыворотке крови фотоколориметрически [9], триглицеридов (ТГ), общего холестерина и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) – ферментативными методами при помощи наборов реактивов (DAC-SpectroMed, Молдавия), а концентрацию холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) в сыворотке крови рассчитывали при помощи формулы Фридевальда.

В динамике эксперимента (на 95 и 125 день) у животных с СД 2-го типа на фоне ожирения определяли показатели артериального давления (систолическое и диастолическое) при помощи аппарата для неинвазивного измерения кровяного давления (LE5002, Panlab, Harvard Apparatus, Испания).

Полученные результаты исследований проанализированы методами вариационной статистики с использованием параметрических и непараметрических критериев [10, 11]. Нормальность распределения изменений определяли при помощи теста Шапиро-Уилка. Для сравнения показателей, характеризующихся нормальным распределением применяли непарный (двухсторонний) t-критерий Стьюдента, а для сравнения параметров с ненормальным распределением – критерий Манна-Уитни. Проверку нулевых гипотез проводили на уровне значимости $p \leq 0,05$. При условиях нормального распределения данных, они приведены в виде средних арифметических значений со статистической ошибкой.

Результаты и их обсуждение

Известно, что кроме глюкозотоксичности, выраженное влияние на инсулинорезистентность и сердечно-сосудистый риск имеет и липотоксичность, в первую очередь повышенные уровни СЖК в сыворотке крови. Экспериментальное повышение СЖК с целью отражения показателей, характерных для СД 2-го типа, приводит к выраженной инсулинорезистентности мышц и печени, а также термозит секрецию инсулина, что соответствует метаболическим дефектам вышеуказанной патологии [12, 13]. Наблюдается также дозо-зависимое ингибирующее влияние относительно тирозиновой фосфорилиции субстрата-1 инсулинового рецептора и активности фосфатидил-инозитол-3-киназы [14] – неотъемлемых составляющих процесса передачи инсулинового сигнала. Считают, что именно внутриклеточное накопление токсических метаболитов СЖК и ТГ вызывает инсулинорезистентность путем нарушения инсулинового сигналинга и множественных этапов глюкозного метаболизма.

В результате проведенных исследований было установлено, что моделирование СД 2-го типа на фоне ожирения приводило к выраженному повышению концентрации СЖК в сыворотке крови экспериментальных животных (табл. 1). У животных группы «Диабет+плацебо» наблюдалось существенное повышение уровня ТГ, что является признаком диабетической дислипидемии и метаболического синдрома.

В группах диабетических животных, получавших в лечении на протяжении месяца биофлавоноидный комплекс из фасоли и препарат сравнения метформин, концентрация циркулирующих СЖК и ТГ к окончанию исследования снижалась со статистической достоверностью по сравнению с показателями животных, получавших плацебо, но не достигала уровней контрольных величин, что можно объяснить сохранением лишнего веса и интолерантностью к глюкозе у животных.

В тоже время следует отметить, что по способности снижать показатели липотоксичности у диабетических животных на фоне ожирения биофлавоноидный комплекс из фасоли приближался к действию метформина (табл. 1).

Существенной характеристикой диабетической дислипидемии являются показатели уровней общего холестерина, ХС ЛПВП и ХС ЛПНП в циркуляции. У диабетических животных, получавших плацебо, наблюдались статистически достоверные проатерогенные изменения во фракциях липопротеинов на фоне повышения общего холестерина в циркуляции (табл. 2), что подтверждается

литературными данными и связано с продолжительным влиянием высокожировой диеты в комбинации с простыми сахарами [5].

Таблица 1

Влияние длительного использования биофлавоноидного комплекса из фасоли и метформина на показатели липидного обмена у животных с СД 2-го типа на фоне ожирения, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Группы животных	n	Триглицериды, ммоль/л	Свободные жирные кислоты, ммоль/л
Интактный контроль	9	0,33±0,04	0,42±0,02
Диабет+плацебо	6	1,16±0,26 $p_1<0,01$	1,92±0,21 $p_1<0,001$
Диабет + метформин	6	0,47±0,13 $p_2<0,05$	0,80±0,12 $p_1<0,01$ $p_2<0,001$
Диабет + биофлавоноидный комплекс из фасоли	7	0,53±0,06 $p_1<0,05$ $p_2<0,05$	0,87±0,12 $p_1<0,01$ $p_2<0,001$

Примечание: p_1 – достоверные отличия с показателями группы «Интактный контроль», p_2 – достоверные отличия с показателями группы «Диабет+плацебо».

Использование в течение месяца биофлавоноидного комплекса из фасоли и препарата сравнения метформина привело к изменению исследуемых параметров в сторону нормализации. При этом следует отметить, что только использование биофлавоноидного комплекса из фасоли уменьшало уровни проатерогенных ХС ЛПНП и общего холестерина до значений, статистически не отличающихся от показателей интактного контроля (табл. 2).

Поскольку СД 2-го типа является заболеванием, ассоциированным с преждевременным атерогенезом и со временем проявляющейся гипертонической болезнью, нами было изучено влияние биофлавоноидного комплекса из фасоли на показатели артериального давления животных с СД 2-го типа на фоне ожирения.

Таблица 2

Влияние длительного использования биофлавоноидного комплекса из фасоли и метформина на уровень общего холестерина, ХС ЛПВП и ХС ЛПНП в сыворотке крови животных с СД 2-го типа на фоне ожирения, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Группы животных	n	Общий холестерин, ммоль/л	ХС ЛПВП, ммоль/л	ХС ЛПНП, ммоль/л
Интактный контроль	9	1,41±0,13	0,58±0,05	0,76±0,09
Диабет + плацебо	6	2,86±0,60 $p_1 < 0,05$	0,40±0,04 $p_1 < 0,02$	2,23±0,62 $p_1 < 0,05$
Диабет + метформин	6	1,81±0,07 $p_1 < 0,02$	0,52±0,04 $0,05 < p_2 < 0,1$	1,20±0,08 $p_1 < 0,01$ $0,05 < p_2 < 0,1$
Диабет + биофлавоноидный комплекс из фасоли	7	1,69±0,15 $0,05 < p_2 < 0,1$	0,57±0,04 $p_2 < 0,01$	1,01±0,15 $0,05 < p_2 < 0,1$

Примечание: p_1 – достоверные отличия с показателями группы «Интактный контроль», p_2 – достоверные отличия с показателями группы «Диабет+плацебо», p_3 – достоверные отличия с показателями группы «Диабет+метформин».

Установлено, что воспроизведенная модель СД 2-го типа на фоне ожирения у животных характеризовалась достоверным повышением как систолического, так и диастолического артериального давления (табл. 3).

Использование в лечении животных с СД 2-го типа на фоне ожирения биофлавоноидного комплекса из фасоли и препарата сравнения метформина приводило к статистически значимому восстановлению показателей артериального давления (табл. 3).

Биофлавоноидный комплекс из фасоли по своему действию на показатели артериального давления существенно превышал действие метформина, которое проявлялось статистически значимым снижением только показателя диастолического давления (на 12%). В это же время, биофлавоноидный комплекс из фасоли достоверно снижал как показатели систолического давления (на 24 %), так и показатели диастолического давления (на 38 %) диабетических животных.

Таблица 3

Влияние длительного использования биофлавоноидного комплекса из фасоли и метформина на показатели артериального давления у животных с СД 2-го типа на фоне ожирения, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), n=7-6

Группы животных	До лечения (95 день)		После лечения (125 день)	
	Систолическое давление, мм рт. ст.	Диастолическое давление, мм рт. ст.	Систолическое давление, мм рт. ст.	Диастолическое давление, мм рт. ст.
Интактный контроль	138,14±3,07	106,29±3,41	137,71±5,87	111,14±6,04
Диабет + плацебо	201,60±8,45 $p_1 < 0,01$	159,40±2,98 $p_1 < 0,01$	216,20±18,02 $p_1 < 0,002$	168,80±9,05 $p_1 < 0,01$
Диабет + метформин	201,50±8,87 $p_1 < 0,01$	156,17±7,13 $p_1 < 0,01$	186,33±7,80 $p_1 < 0,001$	133,83±7,73 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,02$
Диабет + биофлавоноидный комплекс из фасоли	211,14±9,03 $p_1 < 0,05$	171,00±5,14 $p_1 < 0,01$	158,43±7,03 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,02$ $p_3 < 0,05$	105,57±3,19 $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,01$

Примечание: p_1 – достоверные отличия с показателями группы «Интактный контроль», p_2 – достоверные отличия с показателями группы «Диабет+плацебо», p_3 – достоверные отличия с показателями группы «Диабет+метформин».

Выводы

Длительное применение (в течение месяца) в лечении животных с СД 2-го типа биофлавоноидного комплекса из фасоли способствовало снижению концентрации в сыворотке крови: триглицеридов, свободных жирных кислот, проатерогенных ХС ЛПНП, общего холестерина и нормализации концентрации ХС ЛПВП, а также снижению показателей систолического и диастолического артериального давления.

Биофлавоноидный комплекс из фасоли проявил гипогликемический эффект, приближавшийся к действию метформина, а также выраженный антиатерогенный и антигипертензивный эффекты, и превышал действие метформина.

Таким образом, биофлавоноидный комплекс из фасоли может быть перспективным лекарственным средством для терапии пациентов с СД 2-го типа со склонностью к ожирению.

References

Литература

1. Дедов И.И. Сахарный диабет. Руководство для врачей // И.И. Дедов, М.В. Шестакова. – М.: 2003. – 455 с.
2. Сахарный диабет 2 типа: скрининг и факторы риска / Н.А. Кравчун, А.В. Казаков, Ю.И. Караченцев [и др.] – Х. : Новое слово, 2010. – 256 с.
3. Полторак В.В. Сахарный диабет 2 типа: два патогенетических дефекта – две мишени для терапевтического воздействия [Текст] / В.В. Полторак // Здоров'я України. – 2008. – № 20/1. – С. 3-4.
4. Майоров А.Ю. Сахарный диабет 2 типа [Текст] / А.Ю. Майоров, Е.В. Суркова. – М.: 2008. – 76 с.
5. Jurgoński, A. A high-fat diet differentially affects the gut metabolism and blood lipids of rats depending on the type of dietary fat and carbohydrate [Text] / A. Jurgoński, J. Juśkiewicz, Z. Zduńczyk // Nutrients. – 2014. – Vol. 6, № 2. – P. 616-626.
6. Streptozotocin-induced diabetes models: pathophysiological mechanisms and fetal outcomes [Text] / D. C. Damasceno, A. O. Netto, I. L. Iessi [et al.] // BioMed. Research International. – 2014. – Vol. 2014. – Article ID 819065, 11 pages.
7. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [Текст] // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142-145.
8. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев // Журнал АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513-1516.
9. Dumcombe, W. C. The colorimetric micro-determination of long-chain fatty acids [Text] / W. C. Dumcombe // Biochem. J. – 1963. – Vol. 188, № 1. – P. 7-10.
10. Гланц, С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
11. Атраментова, Л. Статистичні методи в біології [Текст]: підручник / Л. Атраментова, О. Утєвська. – Х. : ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2007. – 288 с.
12. A sustained increase in plasma free fatty acids impairs insulin secretion in nondiabetic subjects genetically predisposed to develop type 2 diabetes [Text] / S. Kashyap, R. Belfort, A. Gastaldelli [et al.] // Diabetes. – 2003. – Vol. 52. – P. 2461-2474.
13. Discordant effects of a chronic physiological increase in plasma FFA on insulin signaling in healthy subjects with or without a family history of type 2 diabetes [Text] / S.

Kashyap, R. Belfort, R. Berria [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 287. – P. E537-E546.

14. Dose response effect of elevated plasma FFA on insulin signaling [Text] / R. Belfort, L. Mandarino, S. Kashyap [et al.] // Diabetes. – 2005. – Vol. 54. –P. 1640-1648.