

## ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ КВАСОЛІ НА ГОСТРУ ІНСУЛІНОВУ НЕДОСТАТНІСТЬ, ВИКЛИКАНУ АНТИІНСУЛІНОВОЮ СИРОВАТКОЮ У КРОЛІВ

**В.А. Рибак, Л.М. Малоштан**

*Національний фармацевтичний університет (Харків)*

### Вступ

Патологія ендокринної системи посідає одне з провідних місць у структурі загальної захворюваності населення України переважно за рахунок пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД) [2]. Неминучі важкі ускладнення, різке зниження якості життя – це те, до чого призводить ЦД. Захворюваність на ЦД неухильно зростає, що обумовлює постійний пошук оптимальних схем лікування і шляхів профілактики цієї патології. Аутоімунний діабет (АД) відповідно класифікації Всесвітньої організації охорони здоров'я – Цукровий діабет (ЦД) 2-го типу – латентний аутоімунний діабет (LADA) – latent autoimmune diabetes in adults (LADA) (Zimmet P.Z., 1995) [4, 6].

Провідну роль у виникненні назви відіграє аутоімунний характер пошкодження β-клітин підшлункової залози [3]. На відміну від гострої інсулінової недостатності при ЦД 1-го типу, перебіг АД йде повільніше, що визначає поступовий розвиток інсулінової недостатності. Враховуючи даний патогенетичний механізм пошкодження острівців Лангергансу, основним критерієм якого є маркери аутоімунного запалення – антитіла до антигену клітин-β острівців Лангергансу (ICAab) і аутоантитіла до глютаматдекарбоксилази (GADab), поява антитіл до β-клітин розглядають як аутоімунну реакцію, що веде до розвитку клінічної картини гострої інсулінової недостатності [5, 7, 10].

У розвитку ЦД 1-го та 2-го типів виділяють шість стадій, одними з яких є: виявлення у крові антитіл до β-клітин і до інсуліну, а також зниження секреції інсуліну (інсулінова недостатність); порушення толерантності до глюкози без клінічних ознак ЦД; зниження чутливості тканин до інсуліну (інсулінорезистентність) у 40-50 річному віці (ЦД 2-го типу). Одним із індикаторів стану імунного статусу організму та розвитку аутоімунних процесів є рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦК) у крові [11]. Утворення імунокомплексних сполучень

інсуліну і наступна його деградація є головними механізмами, за допомогою яких здійснюється інактивація цього гормону в організмі. Інактивація інсуліну обумовлюється імуногенністю гормону, а саме індукціями антитіл інсуліну, які зв'язуючись, утворюють комплекс (антитіло+інсулін), який стає у відповідь на глюкозу [8, 9].

Таким чином, ЦД розвивається на тлі порушень імунологічного гомеостазу організму, зокрема, чітко встановлена імунодепресуюча направленість цього захворювання. Імунологічні параметри, в силу закономірності їх змін, все ширше використовуються для оцінки важкості ЦД з метою повноти компенсації, прогнозування і корекції в лікуванні.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дослідження виконані згідно з планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету з проблем МОЗ України «Створення нових лікарських препаратів на основі рослинної та природної сировини, у тому числі продуктів бджільництва, для дорослих та дітей» (№ Державної реєстрації 0198U007008).

**Метою** дослідження було вивчення впливу густого екстракту квасолі на гостру інсулінову недостатність, викликану антиінсуліновою сироваткою (АІС) у кролів.

### **Матеріали та методи дослідження**

Гостру інсулінову недостатність у кролів викликали введенням АІС в дозі 3 мл на тварину. АІС отримували у морських свинок, для імунізації яких використовували інсулін великої рогатої худоби [1].

АІС морських свинок, введена тваринам інших видів, інактивує інсулін у крові, β-клітинах підшлункової залози і, таким чином, викликає гострий діабетичний синдром, не порушуючи інших функцій організму. При моделюванні використовували АІС з титром преципітації 1:512. Дослідження проведені на 15 кролях породи Шиншила масою 2,8-3,2 кг. Всі тварини були розподілені на 3 групи по 5 в кожній. За 2 години до введення АІС тваринам 1 групи (контрольна) внутрішньощлунково вводили еквівалентну кількість питної води, 2 групи – препарат порівняння метформін, 3 групи – густий екстракт квасолі.

У кролів всіх груп з вушної вени забирали кров для визначення рівня глюкози – вихідного, під час введення АІС та через 2, 4, 6 і 8 годин після одноразового введення препарату порівняння – метформіну в терапевтичній дозі 30 мг/кг та густого екстракту квасолі в дозі 40 мг/кг, що була встановлена в попередніх дослідженнях. Концентрацію глюкози в крові тварин визначали глюкозооксидазним методом за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика».

Дослідження проводили у відповідності з вимогами комісії з біоетики НФаУ і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) [1]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами дисперсійного аналізу за допомогою програми «Statistica, v.6,0».

#### Отримані результати та їх обговорення

Показники рівня глюкози в крові тварин під час введення АІС у всіх дослідних груп мали тенденцію до підвищення. В контрольній групі тварин цей показник підвищився на 4,3 ммоль/л, в групі тварин, що отримувала в лікуванні метформін – на 4,9 ммоль/л та в групі тварин, що отримувала густий екстракт квасолі – на 4,8 ммоль/л по відношенню до вихідних показників (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив густого екстракту квасолі на глікемію, викликану АІС у кролів (M±m), (n=5)

Досліджуваний об'єкт/ мг/кг	Динаміка вмісту глюкози (С, ммоль/л)					
	Вихідні дані	Під час введення АІС	через 2 год	через 4 год	через 6 год	через 8 год
Контроль	5,9±0,110	10,2±0,141*	12,8±0,066*	14,0±0,163*	9,8±0,114*	7,8±0,156*
Метформін (50 мг/кг)	6,1±0,187	11,0±0,130*	9,8±0,139*	9,5±0,120*	8,7±0,112*	7,8±0,121**
Густий екстракт квасолі (40 мг/кг)	5,8±0,058	10,6±0,086*	8,6±0,175*	7,9±0,068*	6,2±0,066***	5,7±0,100***

**Примітка:** \* –  $p_1 < 0,001$  – достовірно по відношенню до вихідних даних, \*\* –  $p_2 < 0,01$  – достовірно по відношенню до вихідних даних, \*\*\* –  $p_3 < 0,05$  – достовірно по відношенню до вихідних даних.

Через дві години дослідження у тварин контрольної групи відбувається подальше підвищення рівня глюкози в крові на 6,9 ммоль/л по відношенню до вихідних показників. В цей самий час рівень глюкози у крові тварин, що отримували метформін та густий екстракт квасолі почав знижуватися на 11,1% і на 18,9% по відношенню до показнику введення АІС (рис. 1).

Через чотири години дослідження у тварин контрольної групи рівень глюкози в крові знаходиться на висоті – підвищується на 8,1

ммоль/л і тільки через шість годин дослідження розпочинається тенденція до зниження рівня глюкози на 3,9% по відношенню до показнику введення АІС.

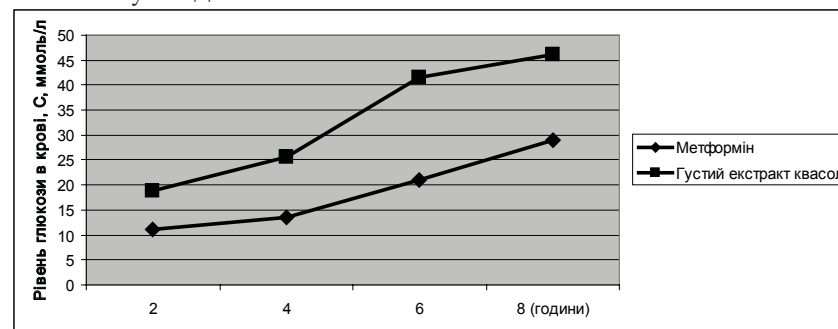


Рис. 1. Гіпоглікемічна активність густого екстракту квасолі на глікемію, викликану АІС у кролів.

Через чотири та шість годин дослідження спостерігалось виражене зниження рівня глюкози в крові тварин, що отримували густий екстракт квасолі на 25,5% і на 41,5%, а в групі тварин, що отримували метформін – на 13,6% і на 20,9% до показнику введення АІС.

Через вісім годин дослідження продовжується зниження рівня глюкози у крові тварин контрольної групи на 23,5% по відношенню до показнику введення АІС. В цей самий час зберігається виражена тенденція до зниження рівня глюкози в крові тварин на 46,2% до показнику введення АІС та відновлення вихідного показнику в групі тварин, що отримували в лікуванні густий екстракт квасолі. В групі тварин, що отримувала метформін – рівень глюкози знизився тільки на 29,1% по відношенню до показнику введення АІС.

#### Висновки

1. За всіма часовими точками дослідження (через 2, 4, 6 і 8 годин) густий екстракт квасолі проявив виражену гіпоглікемічну дію і переважав над дією препарату порівняння – метформіну в 1,7; 1,9; 2,0 і 1,6 разів відповідно.

2. На тлі розвитку АД у кролів густий екстракт квасолі проявляє інсуліноподібну дію, а саме зв'язує аутоінсулінові тіла та вивільняє ендогенний інсулін.

3. Встановлений виражений антигіперглікемічний ефект густого екстракту квасолі дає можливість для використання в лікуванні інсулінової недостатності при діабеті «LADA».

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. НАМН України О.В. Стефанова. – Київ: Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Аналіз діяльності ендокринологічної служби України у 2010 році та перспективи розвитку медичної допомоги хворим з ендокринною патологією / О.С. Ларін, В.І. Паньків, М.І. Селіваненко [та ін.] // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2011. – Т. 35, № 3. – С. 10-18.
3. Никонова Т.В. Латентний аутоімунний діабет *взрослых* (LADA): клинические, иммуногенетические и гормонально-метаболические аспекты / Т.В. Никонова // Международный эндокринологический журнал. – 2011. – № 7 (39). – С. 67-74.
4. Смирнова О.М. Аутоімунний латентний сахарний діабет у *взрослых* / О.М. Смирнова, И.В. Кононенко, И.И. Дедов // Проблемы эндокринологии. – 2008. – Т. 54, № 2. – С. 1-7.
5. Штандель С.А. Изучение особенностей наследования LADA *взрослых* (LADA) / С.А. Штандель, Т.М. Тихонова // Цитология и генетика. – 2008. – № 5. – С. 80-83.
6. Pozzilli P. Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis (*latent autoimmune diabetes of the adult*). Definition, characterization, and potential prevention / P. Pozzilli, U. Di Mario // Diabetes Care. – 2001. – Vol. 24, № 8. – P. 1460-1467.
7. AACE/ACE Consensus Statement. Statement by an american association of clinical endocrinologists/american college of endocrinology consensus panel on type 2 diabetes mellitus: an algorithm for glycemic control // Endocrine practice. – 2009. – Vol. 15, № 6. – P. 540-559.
8. Kukreja A.K. Autoimmunity and diabetes / A. Kukreja, N.K. Maclaren // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – Vol. 84, № 12. – P. 4371-4378.
9. Latent autoimmune diabetes in adults / G. Stenström, A. Gottsäter, E. Bakhtadze [et al.] // Diabetes. – 2005. – Vol. 54, Suppl. 2, P. 68-72.
10. Type 1 diabetes and latent autoimmune diabetes in adults (LADA): one end of the rainbow / R.D. Leslie, R. Williams, P. Pozzilli [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2006. – Vol. 91, № 5. – P. 1654-1659.
11. TNF- $\alpha$  RII in relation to type 1 diabetes and latent autoimmune diabetes in adults / C. Torn, M. Hillman, C.B. Sanjeevi [et al.] // Diabetologia. – 2003. – Vol. 46, Suppl. 2. – P. 108.

#### Резюме

**Рыбак В.А., Малоштан Л.М.** Вивчення впливу густого екстракту квасолі на гостру інсулінову недостатність, викликану антиінсуліновою сироваткою у кролів. У роботі наведені результати досліджень, пов'язаних з впливом густого екстракту квасолі на діабетичний синдром, викликаний у кролів введенням

аутоімунної сироватки морських свинок. Густий екстракт квасолі (у дозі 40 мг/кг) протягом всього дослідження (через 2, 4, 6 і 8 годин) проявляв виражену гіпоглікемічну дію та переважав над дією препарату порівняння – метформіну (у дозі 30 мг/кг) в 1,7; 1,9; 2,0 і 1,6 разів відповідно. Встановлений виражений антигіперглікемічний ефект густого екстракту квасолі дозволяє рекомендувати його для лікування інсулінової недостатності при діабеті «LADA».

**Ключові слова:** аутоімунний діабет, інсулін, метформін, густий екстракт квасолі.

#### Резюме

**Рыбак В.А., Малоштан Л.Н.** Изучение влияния густого экстракта фасоли на острую инсулиновую недостаточность, вызванную антиинсулиновой сывороткой у кроликов.

В работе представлены результаты исследований, связанных с влиянием густого экстракта фасоли на диабетический синдром, вызванный у кроликов введением антиинсулиновой сыворотки морских свинок. Густой экстракт фасоли (в дозе 40 мг/кг) на протяжении всего эксперимента (через 2, 4, 6 и 8 часов) проявлял выраженное гипогликемическое действие и преобладал над действием препарата сравнения – метформина (в дозе 30 мг/кг) в 1,7; 1,9; 2,0 и 1,6 раз соответственно. Установленный выраженный антигиперглицемический эффект густого экстракта фасоли позволяет рекомендовать его для лечения инсулиновой недостаточности при диабете «LADA».

**Ключевые слова:** аутоиммунный диабет, инсулин, метформин, густой экстракт фасоли.

#### Summary

**Rybak V.A., Maloshtan L.N.** Study of the influence of spissum bean extract on acute insulin deficiency caused by antiinsulinic serum in rabbits.

The article presents the research results related to the influence of solid bean extract on diabetic syndrome caused in rabbits by the introduction of antiinsulinic guinea pig serum. Spissum bean extract (40 mg/kg) during the whole experiment (2, 4, 6 and 8 hours after the introduction) developed discernible hypoglycemic effect and prevailed over the effect of the comparator agent – Metformin (30 mg/kg) by 1,7; 1,9; 2,0 and 1,6 times respectively. Established discernible hypoglycemic effect of spissum bean extract can be recommended for the treatment of insulin deficiency in diabetes «LAD».

**Key words:** autoimmune diabetes, insulin, metformin, spissum bean extract.

**Рецензент:** д.мед.н., проф. Н.І. Філімонова