

УДК 577.125.8

А. Л. ЗАГАЙКО, А. І. ШКАПО, Т. О. БРЮХАНОВА

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ГІДРОКСИЛИМОННОЇ КИСЛОТИ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ, ОБУМОВЛЕНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЮ У ЩУРІВ

Наведені результати дослідження доцільності застосування гідроксилімонної кислоти для корекції патологічних змін вуглеводного обміну, які формуються за умов експериментальної інсулінорезистентності у щурів. Виявлено, що досліджувана сполука значною мірою пригнічує формування гіперглікемії та гіперінсулінемії, нормалізує глюкозний гомеостаз та знижує вміст продуктів глікозилювання.

Ключові слова: гідроксилімонна кислота; інсулінорезистентність; глюкозний гомеостаз; глікозилюваний гемоглобін; фруктозамін

ВСТУП

Синдром інсулінорезистентності та асоційовані з ним захворювання є одними з найбільш розповсюджених ендокринних патологій у світі, яка характеризується високими показниками смертності внаслідок розвитку кардіоваскулярних ускладнень, які, насамперед, є наслідком формування ангіопатій і проатерогенних змін [4, 5]. Патогенез інсулінорезистентності супроводжується порушеннями практично всіх видів обміну. Незважаючи на досить широкий арсенал лікарських засобів, які застосовуються у схемах корекції чутливості до інсуліну, пошук і дослідження нових лікарських засобів залишається актуальним питанням. Останнє обумовлено рядом факторів, серед яких неможливість забезпечення комплексного підходу щодо впливу на різні складові патогенезу патології, що корелює з недостатньою ефективністю терапії та часто супроводжується значною кількістю побічних реакцій. Відомо, що розвиток синдрому інсулінорезистентності тісно пов'язаний з наявністю абдомінального ожиріння. Відповідно, необхідною складовою ефективної фармакотерапії є медикаментозний вплив на ожиріння [5, 10]. Зважаючи на те, що останнім часом набувають популярності функціональні харчові продукти для корекції надмірної ваги із Гарцинії камбоджийської, діючою речовиною якої є гідроксилімонна кислота (ГЛК), представлялося доцільним дослідити вплив цієї речовини на показники вуглеводного обміну за експериментальної інсулінорезистентності у щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У роботі використовували щурів-самців популяції Wistar масою 160-200 г, яких розподілили на дослідні групи в залежності від мети експерименту:

- інтактний контроль – здорові тварини, яких протягом 5 тижнів утримували на стандартному харчовому раціоні віварію ЦНДЛ НФаУ;
- тварини, на яких моделювали ІР шляхом утримання на гіперкалорійній дієті (яка містила 29 % жиру – переважно насичених ліпідів) з високим вмістом фруктози (1 г на 100 г маси тіла) і вводили внутрішньоочеревинно низькі дози (15 мкг/кг) дексаметазону щодня протягом 5 тижнів (група модельної патології) [3];
- тварини, на яких моделювали ІР шляхом утримання на гіперкалорійній дієті (яка містила 29 % жиру – переважно насичених ліпідів) з високим вмістом фруктози (1 г на 100 г маси тіла) і вводили внутрішньоочеревинно низькі дози (15 мкг/кг) дексаметазону щодня протягом 5 тижнів та вводили, починаючи з 3 тижня утримання на гіперкалорійній дієті та ін'єктування дексаметазоном, внутрішньошлунково гідроксилімонну кислоту (ГЛК) – препарат «Стифімол» (виробництва «Київський вітамінний завод») у дозі 5 мг на 1 кг маси тіла.

Всіх тварин декапітували під хлоразоло-уретановим наркозом. У декапітованих тварин збирали кров для отримання сироватки (шляхом центрифугування). Дослідження проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), узгоджених з «Європейською конвен-

**ВПЛИВ ГІДРОКСИЛИМОННОЇ КИСЛОТИ НА ВМІСТ ГЛІКОЗИЛЬОВАНОГО ГЕМОГЛОБІНУ,
ФРУКТОЗАМІНУ, ГЛЮКОЗИ, ІМУНОРЕАКТИВНОГО ІНСУЛІНУ, РІВЕНЬ БАЗАЛЬНОЇ ГЛІКЕМІЇ
ТА ПЛОЩУ ПІД ГІПОГЛІКЕМІЧНОЮ КРИВОЮ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ У ЩУРІВ ($M \pm m, n = 10$)**

| Показник | Інтактний контроль | Модельна патологія | Модельна патологія + ГЛК |
|----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------|
| Глікозильований гемоглобін | 7,2 ± 0,3 | 10,1 ± 0,5* | 8,3 ± 0,3*/** |
| Фруктозамін | 1,86 ± 0,07 | 3,8 ± 0,13* | 2,9 ± 0,12*/** |
| Базальна глікемія, ммоль/л | 4,02 ± 0,09 | 14,23 ± 0,22* | 4,98 ± 0,17** |
| ПГК, ммоль/л/хв | 617,22 ± 12,44 | 2112,05 ± 34,18* | 708 ± 10,65** |
| Глюкоза, ммоль/л | 5,60 ± 0,39 | 10,70 ± 0,32* | 7,78 ± 0,26** |
| ІРІ, пмоль/л | 92,200 ± 2,804 | 137,750 ± 2,540* | 98,604 ± 3,140** |

Примітки: * – достовірно відносно групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$); ** – достовірно відносно групи модельної патології ($p \leq 0,05$).

цією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) та у Етичному Кодексі Всесвітньої Медичної Асоціації (Гельсінська декларація, 1964).

Концентрацію глюкози у сироватці крові тварин визначали натще з використанням глюкозооксидазного методу за допомогою глюкометра "One touch ultra easy" (виробництва LifeScan, Johnson&Johnson, США).

Рівень імунореактивного інсуліну (ІРІ) визначали у крові тварин натще з використанням методом радіоімунологічного аналізу *in vitro* стандартного набору реактивів виробництва "Immundiagnostik" (Німеччина). Концентрацію глікозильованого гемоглобіну (HbA1C) визначали імунотурбідиметричним методом, вміст фруктозаміну – спектрофотометрично з використанням тетразолію нітросинього. Площу під глікемічними кривими (ПГК) при проведенні внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ) розраховували за допомогою комп'ютерної програми Mathlab. Глюкозний гомеостаз оцінювали в різні терміни після відтворення моделі (7, 14 і 21 день) за показниками базальної глікемії і ВЧТТГ (3 г/кг маси тіла) [8]. Статистичну обробку результатів проводили на персональному комп'ютері з використанням пакетів Excel та Statistica 6.0 for Windows, коефіцієнт кореляції визначали за Спірменом.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Утримання тварин на високофруктозній дієті з ін'єктуванням дексаметазоном призводить до формування виразних порушень вуглеводного обміну, що за умов наших експериментів підтверджувалось динамікою відповідних показників. У нелікованих тварин достовірно зростали вміст глюкози та ІРІ у 1,91 та 1,51 рази відповідно. Для оцінки ступеня компенсованості цукрового діабету за різні проміжки часу використовують ряд показників, серед яких рівень фруктозаміну та глікозильованого гемоглобіну. Фруктозамін – інтегральний показник глікемії за останні 3 тижні, який представляє собою суму глікозильованих білків плазми, серед яких основна частина – глі-

козильований альбумін, що обумовлює циркуляцію фруктозаміну у кров'яному руслі (близько 20 днів). Відомо, що визначення глікозильованого гемоглобіну (HbA1C) – інтегрального показника, що віддзеркалює стан вуглеводного обміну протягом попередніх 3-4 місяців більш інформативно при значній тривалості захворювання. Збільшення рівня HbA1C є прогностичним критерієм щодо розвитку різних видів ангіопатій та інших ускладнень на тлі цукрового діабету [1, 2, 7]. У тварин групи модельної патології спостерігалось більш ніж двократне зростання рівня фруктозаміну та показника HbA1C (на 40,27% відносно здорових тварин). Про патологічні зміни глюкозного гомеостазу свідчило достовірне зростання рівня базальної глікемії (у 3,53 рази) та площі під глікемічною кривою (у 3,42 рази) відносно аналогічних показників тварин групи інтактного контролю (таблиця).

Виразні патологічні зміни показників вуглеводного обміну, ймовірно, були обумовлені порушенням утилізації глюкози периферичними тканинами через пригнічення експресії транспортерів глюкози GLUT1 та GLUT4 під дією дексаметазону [6]. Крім того, маніфестація інсулінорезистентності супроводжувалась порушенням регуляції рівня глікемії під дією інсуліну. Зазначені зміни свідчили про формування за умов наших експериментів комплексу метаболічних порушень, характерних для метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

Введення тваринам досліджуваної сполуки – ГЛК значною мірою корегувало патологічні зміни вуглеводного обміну, що відбивалося на динаміці відповідних показників. У лікованих тварин пригнічувались прояви гіперглікемії та гіперінсулінемії (зниження на 27,3 % та 28,5 % відповідно відносно тварин групи модельної патології). Рівень базальної глікемії та площа під глікемічною кривою достовірно не відрізнялись від аналогічних показників здорових тварин. Зниження під дією ГЛК рівня глікозильованого гемоглобіну (на 17,9 %) та вмісту фруктозаміну (на 23,7 %) відносно нелікованих тварин свідчить про здатність досліджуваної сполуки стабільно пригні-

чувати прояви гіперглікемії при різній тривалості проявів патології (таблиця). Зважаючи на прогностичну значущість вищезгаданих показників, застосування ГЛК може супроводжуватись зниженням ризику розвитку ангіопатій та ускладнень іншого генезу, характерних для метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу, що корелюють з накопиченням глікельованих протеїнів у тканинах. Механізми реалізації зазначених біологічних ефектів ГЛК залишаються не до кінця з'ясованими, проте, спираючись на дані наших попередніх досліджень, можна передбачати, що виразний корегуючий вплив щодо змін глікемічного профілю пов'язаний із пригніченням активності ензиму АТФ-цитратліази та зі зменшенням проявів гіперліпідемії, характерної для даної модельної патології, що корелює з пригніченням проявів ліпотоксичності [11]. Крім того, згідно з даними літератури ГЛК виявляє досить виразні антиоксидантні властивості та підвищує рівень інсуліно-сенситуючого адипокіну – адипонектину, що, у свою чергу, є метаболічними проявами нівелювання патологічних змін обміну вуглеводів, що узгоджується з отриманими нами даними [9]. Проте біохімічні механізми реалізації зазначених ефектів ГЛК потребують більш детального дослідження.

ВИСНОВКИ

Застосування ГЛК за експериментальної інсуліно-резистентності супроводжується виразним корегуючим впливом стосовно патологічних змін глікемічного профілю, що підтверджується пригніченням виразності гіперглікемії та гіперінсулінемії, зниженням рівня базальної глікемії та продуктів глікозилювання, зменшенням площі глікемічної кривої. Зазначені ефекти, ймовірно, реалізуються через пригнічення активності АТФ-цитратліази, підвищення рівня адипонектину та поліпшення антиоксидантно-прооксидантної рівноваги.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Барна О. Н. Гликозилований гемоглобін – надійний і точний тест для управління сахарним діабетом? / О. Н. Барна // Ліки України. – 2014. – № 2. – С. 17-21.
2. Гульчій М. В. Системний контроль глікозилизованого гемоглобіну – шлях до покращення лікування і якості життя людей з цукровим діабетом / М. В. Гульчій // Діабет. Ожиріння. Метаболічний синдром. – 2014. – № 4. – С. 91-98.
3. Загайко А. Л. Інформаційний лист «Модифікація методу моделювання експериментальної інсулінорезистентності у щурів» / А. Л. Загайко, Т. О. Брюханова, А. І. Шкапо. – К., № 86-2015. – 7 с.
4. Королюк О. Я. Прогностичне значення критеріїв метаболічного синдрому у хворих на ІХС із вперше виявленою гіперглікемією / О. Я. Королюк, О. М. Радченко // Практикуючий лікар. – 2013. – № 4. – С. 46-50.
5. Сыволап В. Д. Инсулинорезистентность: механизмы развития, возможности коррекции / В. Д. Сыволап // Запорожский мед. журн. – 2009. – № 1. – С. 56-62.
6. Buren J. Dexamethasone decreases GLUT 1 and GLUT4 content in primary cultured rat adipocytes / J. Buren, J. Erekssohn // Diabetol. – 1999. – Vol. 42, № 1. – P. 170.
7. Pankiv V. I. Laboratory Diagnosis of Carbohydrate Metabolism Disorders. Diagnosis Algorithm in Hyperglycemic States / V. I. Pankiv // Intern. J. of Endocrinol – 2014. – № 3.59. – P. 69-72.
8. Putilina F. E., Zoidze S. D. Methods of biochemical research (lipid and energy metabolism) / Undered. M. I. Prokhorova. – Leningrad: Publishing House of Leningrad University, 1982. – P. 168-172.
9. Vasques C. A. R. Hypolipemic effect of Garcinia cambogia in obese women / C. A. Vasques, R. Schneider, L. C. Klein, I. Júnior // Phytotherapy Res. – 2014. – Vol. 28, № 6. – P. 887-891.
10. Westerink J. Pharmacological and non-pharmacological interventions to influence adipose tissue function / J. Westerink, F. L. Visseren // Cardiovascular Diabetol. – 2011. – T. 10, № 1. – P. 13-19.
11. Zagayko A. L. The impact of hydroxycitric acid on the lipid metabolism profile under experimental insulin resistance syndrome of Syrian hamsters / A. L. Zagayko, A. I. Shkapo, V. P. Fylymonenko, T. O. Briukhanova // Ukr. Biochem. J. – 2016. – Vol. 88, № 3. – P. 78-82.

УДК 577.125.8**А. Л. Загайко, А. И. Шкапо, Т. А. Брюханова****ИССЛЕДОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ГИДРОКСИЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ У КРЫС**

Приведены результаты исследования целесообразности применения гидроксимионной кислоты для коррекции патологических изменений углеводного обмена, которые формируются при экспериментальной инсулинорезистентности у крыс. Выявлено, что исследуемое соединение в значительной степени подавляет формирование гипергликемии и гиперинсулинемии, нормализует глюкозный гомеостаз и снижает содержание продуктов гликозилирования.

Ключевые слова: гидроксимионная кислота; инсулинорезистентность; глюкозный гомеостаз; гликозилированный гемоглобин; фруктозамин

UDC 577.125.8**A. L. Zagayko, A. I. Shkapo, T. O. Briukhanova****CORRECTIVE INFLUENCE OF APPLES PHENOLIC COMPOUNDS FOOD CONCENTRATE UNDER EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME IN SYRIAN GOLDEN HAMSTERS**

The article presents the results of investigation the apple phenolic compounds food concentrate use feasibility under experimental metabolic syndrome in Syrian golden hamsters. As a comparison drug used the epigallocatechin gallate. It has been shown that both food concentrate and EGCG correcting abnormalities in carbohydrate and lipid metabolism, which are formed under disease model. At the same time more expressive effect has apple phenolic compounds food concentrate, that could be due to its complex antioxidant effects and normalization of anti-oxidant-prooxidant balance.

Key words: metabolic syndrome; apples phenolic compounds food concentrate; epigallocatechin gallate, insulin resistance

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 29.09.2016 р.