

УДК 615.038.001:577

Карпов Л. М., д-р біол. наук, проф., **Абдулла Саммак Ахмед**, асп.,
Васильєва Т. В., асп., **Погосова О. Б.**, асп., **Петросян А. Л.**, мол. наук. сп.
Одеський національний університет, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІВІТАМІННИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ ОБМІНУ У ЩУРІВ З АЛОКСАНОВИМ ДІАБЕТОМ

На щурах лінії Вістар з алоксановим діабетом встановлено, що сумісне з інсуліном введення їм вітаміну В₁ і особливо його коферментної форми — ТДФ значно підвищує коригуючу дію гормону на вміст цукру в крові. Цей позитивний ефект сумісного застосування вітаміну В₁ та інсуліну значно менший щодо рівня активності піруватдегідрогенази, вмісту макроергічних нуклеотидів та вмісту КоА в органах. На відміну від ТДФ, дво-, три- і, особливо, п'ятикомпонентний вітамінний комплекс (В₁+ФМН+нікотинамід+В₂+ліпоєва кислота) у комбінації з інсуліном виявилися набагато ефективнішими по відношенню до всіх названих показників.

Ключові слова: алоксановий діабет, інсулін, полівітаміни, піруватдегідрогеназа, макроергічні фосфати, КоА.

Незважаючи на те, що діабет є одним із найбільш поширених захворювань у людей, механізми порушення обміну речовин при його виникненні ще не достатньо вивчені. Це стосується і обміну вітамінів, хоча вони вже давно використовуються у терапії діабету. Гіпоглікемічні і інсулінпотенціюючі властивості більшості вітамінів групи В та ефективність їх застосування при інсулінозалежному діабеті добре відомі. Що ж до полівітамінних препаратів, то їх коригуюча дія на обмін речовин у хворих на діабет мало з'ясована. Разом з тим відомо, що діабет викликає чіткі ознаки полігіповітамінозу [1, 2, 4, 7, 10], який у свою чергу спричиняє подальше розбалансування обміну речовин, у тому числі і енергопродукуючих процесів [3, 14]. У функціях мітохондрій важливу роль відіграє мультиензимний піруватдегідрогеназний комплекс (ПДГК, КФ 1.2.4.1) [11], в який входять коферментні форми чотирьох вітамінів: В₁, В₂, В₃, РР, а також ліпоєва кислота. У зв'язку із сказаним, метою нашого дослідження було вивчення сумісного впливу інсуліну і різних комплексів вітамінів (в деяких варіантах — включаючи і В₆), на вміст цукру в крові, активність ПДГК, рівень макроергічних сполук і вміст коензиму ацилювання (КоА) в органах щурів з алоксановим діабетом.

Матеріали та методи

Алоксановий діабет у щурів Вістар (самці масою 180-200 г) викликали шляхом одноразової внутрішньочеревинної ін'єкції алоксану у дозі 150 мг/кг після попереднього добового голодування. У досліді брали тварин з рівнем глікемії вищим 300 мг% (проти 90-100 мг% у нормі) на 15 добу після ін'єкції алоксану.

Внутрішньом'язове введення вітамінних препаратів і інсуліну розпочинали через 20 діб після ін'єкції алоксану. Всього тварини отримували 10 таких ін'єкцій. Інсулін вводили по 10 од/кг ваги окремо чи разом з вітамінними препаратами. При цьому дози вітамінів були такими: тіаміну (B_1) — 6, флавінмононуклеотиду (ФМН) — 2, пантотенату — Са (B_3) — 25, піридоксину (B_6) — 5, ліпоєвої кислоти (ЛК) — 2, нікотинаміду (НА) — 20 мг/кг ваги. Загальний об'єм ін'єктованої щуру рідини складав 0,2 мл на 100 г маси тіла. Контрольним тваринам (контроль-1 і контроль-2) вводили фізіологічний розчин у тому ж об'ємі. За контроль-1 правили щурі без алоксанового діабету, за контроль-2 — щурі з алоксановим діабетом, але не отримуючі вітамінів. Ефективність дії вітамінних комплексів порівнювали з впливом вітаміну B_1 і кокарбоксілази (тіаміндіфосфату — ТДФ). При цьому враховували дані літератури [9] про високу ефективність останньої за терапії цукрового діабету у людей і алоксанового діабету у експериментальних тварин.

Щурів у дослід брали через добу після останньої ін'єкції вітамінів та інсуліну і визначали в їх крові рівень цукру (стандартний ортотолуїдиновий метод), а в органах — активність ПДГК [15], вміст нуклеотидних макроергічних фосфатів [13] та КоА [12].

Результати досліджень та їх аналіз

Результати досліджень представлені у таблицях 1 і 2.

Встановлено, що у тварин з діабетом цукор крові підвищується більше, ніж у 3 рази (табл. 1). Ін'єкції інсуліну (далі Ін) практично нормалізували цей показник, а комбінація інсуліну з B_1 виявилася ще більш ефективною. Сполучення Ін з ТДФ приводило до подальшого зменшення цукру в крові, помітно нижче нормального рівня. Введення Ін з такими комбінаціями вітамінів, як (B_1 +ФМН+НА) і (B_1 +ФМН+НА+ B_6), було не менш ефективним. Найвиразніший результат спостерігали у випадку застосування комплексу (B_1 +ФМН+НА+ B_3 +ЛК) та Ін; при цьому рівень цукру знижувався до небезпечної межі. Виходячи із результатів дослідів, ми в подальшому зменшили дозу інсуліну для щурів із загальноприйнятих 40 од/кг до 10 од/кг ваги.

Що стосується активності ПДГК, то у щурів з алоксановим діабетом вона різко падала не лише у печінці (у 2,5 рази), але і в серцевому м'язі. У мозку зменшення цієї активності було менш виразним. У протилежність цьому, ін'єкції хворим тваринам тільки Ін призводили лише до незначного (статистично недостовірного) підвищення активності цього ферменту в усіх досліджуваних органах. Такі ж результати було отримано за сумісного введення діабетичним тваринам Ін і вітаміну B_1 . Ефективнішим за B_1 був ТДФ — як по відношенню до активності ПДГК, так і до рівня цукру крові. Комбінація Ін з (B_1 +ФМН) нормалізувала рівень активності ПДГК у серці і мозку, а в печінці спостерігалося навіть підвищення зазначеної активності. Проте найбільший ефект виявлявся у випадку застосування Ін і п'ятикомпонентної комбінації вітамінів (B_1 +ФМН+НА+ B_3 +ЛК), — при цьому активність ПДГК ставала навіть вищою, ніж в органах здорових тварин.

На відміну від активності ПДГК вміст нуклеотидних макроергічних фосфатів в органах щурів з діабетом найбільш суттєво знижувався у нирках (у 2,5 рази), менше — у печінці (у 2 рази) і зовсім незначно — у мозку (на 14%). Ін'єкції Ін

сприяли певному поліпшенню ситуації. Сумісні введення Ін з ТДФ і вітамінними комплексами значно збільшували вміст макроергічних нуклеотидів у печінці, однак рівень контролю-1 (здорові тварини) все ж не досягався. Слід зазначити, що ступінь позитивного впливу на вміст нуклеотидних макроергічних фосфатів у печінці був приблизно однаковим як за введення щурам ТДФ, так і за ін'єкцій інших вітамінних препаратів. На відміну від цього, у нирках і в мозку ефект полівітамінних комплексів був значно більшим, ніж вплив одного ТДФ, і в більшості випадків сумісне введення Ін і полівітамінного препарату повністю нормалізувало рівень досліджуваних сполук у цих органах.

Таблиця 1

Вплив Ін та вітамінних препаратів різного складу на цукор крові (мг%), вміст нуклеотидних макроергічних фосфатів (мкг Рн/г) і активність ПДГК (мкмоль відновленого фериціаніду/г тканини за 30 хв) у щурів з алоксановим діабетом, n=10

Умови досліджу	Цукор крові	Активність ПДГК			Нуклеотидні макроергічні фосфати		
		Печінка	Серце	Мозок	Печінка	Нирки	Мозок
Контроль (здорові щури)	97±7	128±4	120±5	85±4	216±12	169±12	105±7
Діабет:	301±23*	51±3*	84±2*	63±2*	108±6*	68±8*	90±6*
+Ін	106±10	61±4*	91±5*	68±6	128±8*	87±2*	72±5*
+Ін+В ₁	94±5	72±3*	108±4*	75±4	—	—	—
+Ін+ТДФ	80±6	102±8	118±5	93±4	174±9	63±4*	68±4*
+Ін+І	73±5	157±8	124±7	94±6	136±11	190±8	78±3*
+Ін+ІІ	74±4	129±11	140±15	99±11	170±12	228±15*	106±4
+Ін+ІІІ	61±10	165±18	112±11	79±6	166±11*	180±11	101±7
+Ін+ІV	46±4*	173±14*	156±11*	103±7*	178±11	189±10	107±6
+Ін+V	55±4*	163±9*	148±9	95±4	154±9	179±13	99±5

Примітка: 1) * — різниця з контролем достовірна; 2) позначення полівітамінних комплексів: I — (В₁+ФМН), II — (В₁+ФМН+НА), III — (В₁+ФМН+НА+В₆), IV — (В₁+ФМН+НА+В₃+ЛК), V — (В₁+ФМН+НА+В₃+ЛК+В₆).

За інсулінозалежного діабету (сюди відноситься і алоксановий) в організмі пригнічується ліпогенез і інтенсифікується ліполіз, що супроводжується різким збільшенням вмісту вільних жирних кислот і фонду КоА у тканинах (табл. 2). Нами показано, що введення тваринам інсуліну, і особливо у комбінації з В₁-вміщуючими полівітамінними комплексами, призводить до помітної нормалізації цього фонду. Можливо, що за цим стоїть здатність інсуліну пригнічувати активність ключового ферменту біосинтезу КоА, а саме — пантотенаткінази [8]. За інсулінозалежного діабету спостерігається підвищення активності цього ферменту, яке призводить до зростання вмісту в тканинах КоА.

Із наведених даних видно, що зміни вмісту КоА у печінці діабетичних тварин настають не тільки за введення їм вітаміну В₃, але й інших вітамінних препаратів.

Таким чином, у комплексній терапії інсулінозалежного діабету досить перспективним є застосування інсуліну у комбінації з В-полівітамінними комплексами,

Таблиця 2

Вміст КоА (мкг/г тканини) у печінці щурів з алоксановим діабетом до і після ін'єкцій їм інсуліну сумісно з полівітамінівними препаратами, n=8

Статистичні показники	Контроль	Діабет	Ін'єкції інсуліну сумісно з полівітамінівними препаратами				
			Ін	Ін+ІІ	Ін+ІІІ	Ін+ІV	Ін+V
M	236,8	509,4	337,4	279,2	320,0	291,5	397,7
±m	21,5	28,4	25,8	17,2	18,7	23,6	26,8
p	—	<0,001	<0,01	>0,05	<0,05	>0,05	<0,001

Примітка: позначення ті ж, що в табл. 1

оскільки між цим гормоном і вказаними вітамінами чітко простежується синергічна взаємодія. Щодо синергізму у дії самих вітамінів, то при діабеті він виявляється більш виразно, ніж у здорових тварин. Є підстави вважати, що це обумовлено виникаючим полігіповітамінозом [2, 7, 10], а також гіпоксією тканин [4, 6], якій сприяє підвищення концентрації глікозурованого гемоглобіну у крові [5]. Слід зважати й на те, що інсулін є потужним регулятором ПДГК, збільшуючи співвідношення його діючої і неактивної форм [11], а саме на рівні ПДГК синергічна взаємодія вітамінів групи В є безперечно доведеною.

Література

1. Балаклеєвская В. Г. Сравнительная оценка действия различных производных тиаминна на показатели обмена (транскетолазу, пировиноградную и молочную кислоты) при сахарном диабете: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Смоленск, 1973. — 21 с.
2. Великий Н. Н. Исследование регуляторной роли окислительно-восстановительного состояния никотинамидных коферментов во внутриклеточном метаболизме в тканях животных: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. — Киев, 1987. — 36 с.
3. Великий Н. Н. и др. Специфика регуляции клеточного метаболизма при разных типах экспериментального диабета // Тез. Всесоюз. конф. "Биохимия — медицине" (Л., 1988). — Л., 1988. — С. 56.
4. Великий Н. Н. и др. Гипогликемический эффект никотинамида при аллоксановом диабете у крыс // Пробл. эндокринологии. — 1978. — № 1. — С. 83-88.
5. Галёнок В. А., Диккер В. Е. Гипоксия и углеводный обмен. — Новосибирск: Наука, 1985. — 194 с.
6. Гулямов Т. Д. и др. Функционирование митохондрий при сахарном диабете в эксперименте // Межвед. журн. Узбекистана. — 1980. — № 6. — С. 58-60.
7. Кочурко С. Н. Значение фосфорилированных производных тиаминна в коррекции нарушений липидного обмена при сахарном диабете: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Смоленск, 1975. — 22 с.
8. Мойсеенок А. Г. и др. Протеидизация и биотрансформация пантотената в цитозоле печени мышей с диабетом // Весці АН БССР. Сер. біял. н. — 1987. — № 5. — С. 90-94.
9. Мойсеенок А. Г., Кочурко С. Н., Балаклеєвская В. Г. Тиаминдифосфаты в комплексной терапии сахарного диабета // Кокарбоксилаза и другие тиаминфосфаты / Под ред. Ю. М. Островского. — Минск: Наука и техника, 1974. — С. 172-197.
10. Павловский М. П. и др. Изучение обмена тиаминна (витамина В₁) и его коррекция у больных и угрожаемых по сахарному диабету. — Львов: Вища школа, 1982. — 56 с.
11. Струмило С. А., Виноградов В. В. Витаминызависимые ферменты надпочечников (дегидрогеназы 2-оксокислот). — Минск: Наука и техника, 1988. — 214 с.
12. Handshumacher R., Mueller G., Strong F. An improved enzymatic assay for CoA // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 189, № 1. — P. 335-342.
13. Lecoco J., Inesi G. Determination of inorganic phosphate in the presence of adenosine triphosphate by the molybdovanadate method // Analyt. Biochem. — 1966. — V. 15, № 1. — P. 160-163.
14. Navazio F., Siliprandi N. The action of cocarboxylase on pyruvate utilisation and citrate formation in the liver of normal and diabetic rats // Enzymologia. — 1955. — V. 17, № 4. — P. 225-228.

15. *Roshe T., Cate R.* Evidence for lipoic acid mediated NADH and acetyl-CoA stimulation of liver and kidney pyruvate dehydrogenase kinase // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* — 1976. — V. 72, № 4. — P. 1975-1983.

**Карпов Л. М., Абдулла Саммак Ахмед, Васильева Т. В.,
Погосова О. М., Петросян А. Л.**
Одесский Национальный университет, кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, 65026, Одесса, Украина.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИВИТАМИННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА У КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

Резюме

На крысах линии Вистар с аллоксановым диабетом установлено, что совместное введение им витамина В₁ (и особенно его коферментной формы — ТДФ) с инсулином значительно повышает корригирующее действие гормона на уровень сахара крови. Этот корригирующий эффект был менее выражен в отношении активности в тканях пируватдегидрогеназы, концентрации макроэргических нуклеотидных фосфатов и содержания КоА. По сравнению с ТДФ, двух-, трех- и, особенно, пятикомпонентный витаминный комплекс (В₁ + ФМН + никотинамид + В₃ + липоевая кислота) в сочетании с инсулином были намного эффективнее по отношению ко всем названным показателям.

Ключевые слова: аллоксановый диабет, инсулин, поливитамины, пируватдегидрогеназа, макроэргические фосфаты, КоА.

**Karpov L. M., Abdullah Sammak Ahmed, Vasilyeva T. V.,
Pogosova Ye. B., Petrossian A. L.**
Odessa National University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

POLYVITAMIN PREPARATIONS USAGE FOR COMPLEX CORRECTION OF METABOLISM PATHOLOGIES IN RATS WITH ALLOXAN DIABETES

Summary

It has been found that complex parental injections of vitamin B₁ and especially it's coenzyme form (cocarboxylase – TPP) together with insulin increase treating effect of thr latter up to the level of blood sugar concentration. The same effect but not so strongly developed was observed for pyruvate dehydrogenase activity as well as macroergic nucleotide phosphates and coenzyme A concentrations in the organs of the investigated rats. On the other hand usage of vitamin complex (B₁ + FMN + nicotinamide + B₃ + lipoic acid) together with insulin was much more effective for all discussed parameters.

Key words: alloxan diabetes, insulin, polyvitamins, pyruvate dehydrogenase, macroergic phosphates, CoA.