

ПОШУК НОВИХ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ СТРАТЕГІЙ У ТЕРАПІЇ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ II ТИПУ

Цимбал Л.В.¹, Кулик В.Б.¹, Курінна Л.І.²

¹Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, м Київ, Україна, e-mail: kulyk@biph.kiev.ua

²Клінічна лікарня «Феофанія»

Виявлено виражену антидіабетичну активність анксиолітика - афобазолу. Позитивні значення антиглікемічного показника відзначаються вже на 7-й день введення афобазолу. Відмічено збереження антигіперглікемічної активності афобазолу протягом 7 днів після відміни лікування. Антидіабетична активність афобазолу підтверджується зниженням поліфагії та полідипсії. У тварин активного контролю відзначалася виражена спрага (добове споживання води в 2-4,5 разів більше, ніж у здорових), у щурів дослідної групи мало місце статистично значуще скорочення споживання води. Введення шурам з цукровим діабетом (ЦД) протягом 28 днів афобазолу призводить до збільшення кількості β -клітин і відновлення їх морфологічних характеристик. Сумарна площа інсуліноцитів на тлі лікування афобазолом вище щодо групи активного контролю в 2,2 рази. Препарат статистично значимо збільшує середню площу панкреатичних островців.

Ключові слова: цукровий діабет, гіпоглікемія, цитопротекція, поліфагія, полідипсія, афобазол.

SEARCH FOR NEW PHARMACEUTICAL STRATEGIES IN THE TREATMENT OF TYPE II DIABETES

Tsymbal L.V.¹, Kulyk V.B.¹, Kurinna L.I.²

¹Kyiv National University of Technologies and Design, Department of Industrial Pharmacy, Kyiv, Ukraine, e-mail: kulyk@biph.kiev.ua

²Feofaniya Clinical Hospital

The expressed antidiabetic activity of anxiolytic - afobazole is revealed. Positive values of antiglycemic index are observed already on the 7th day of afobazole administration. The preservation of antihyperglycemic activity of afobazole for 7 days after discontinuation of treatment. The antidiabetic activity of afobazole is confirmed by a decrease in polyphagia and polydipsia. In animals of active control there was a pronounced thirst (daily water consumption is 2-4.5 times more than in healthy), in rats of the experimental group there was a statistically significant reduction in water consumption. Administration of

afobazole to rats with diabetes mellitus (DM) for 28 days leads to an increase in the number of β -cells and restoration of their morphological characteristics. The total area of insulin cells on the background of treatment with afobazole is 2.2 times higher than in the active control group. The drug statistically significantly increases the average area of the pancreatic islets.

Keywords: diabetes mellitus, hypoglycemia, cytoprotection, polyphagia, polydipsia, afobazole.

Мета дослідження: оцінка гіпоглікемічної та цитопротекторної активності відомого анксиолітика Афобазолу щодо панкреатичних β -клітин в умовах моделі ЦД 2 типу та зіставлення вираженості антидіабетичного ефекту на функціональному і морфологічному рівнях.

Матеріали та методи дослідження: Визначення рівня глюкози в крові тварин, контроль рівня споживання води та їжі тваринами, зважування, мікроскопічний аналіз, статистична обробка результатів.

Результати дослідження.

До недавнього часу, питання про можливість використання нейропротекторних речовин в якості антидіабетичних препаратів не ставилося. Проте, на підставі спільності механізмів регуляції патологічних процесів в нейронах і β -клітинах було висунуто положення про доцільність дослідження антидіабетичної активності у нейропротекторних речовинах, що впливають на провідні чинники розвитку ЦД 2 типу [1-2].

Були виявлені антидіабетичні властивості оригінальних нейропротекторних сполук - анксиолітика Афобазолу і дипептидного ноотропного препарату ноопепт. Афобазол раніше був вивчений на моделі гестаційного ЦД. Препарат проявляв значну гіпоглікемічну активність у вагітних діабетичних щурів і зменшував показники пошкодження ДНК плацентарних і ембріональних клітин [2-6].

Зазначені вище дослідження проводилися з оцінкою функціональних показників ЦД, зокрема, гіперглікемії і маси тіла, і зазвичай не містили даних морфологічного вивчення, які могли навести прямі докази захисної

дії препаратів щодо інсулін-продукуючих β -клітин підшлункової залози. Виняток становив препарат ноопепт, який був частково вивчений і на морфологічному рівні. Тому ми вирішили детально дослідити гіпоглікемічну і захисну дію афобазолу відносно панкреатичних β -клітин в умовах СТЗ-індукованого ЦД 2 типу, з використанням біохімічних та цитоморфометричних методів.

Так, ЦД 2 типу моделювали шляхом одноразового введення стрептозотоцину(СТЗ) в дозі 45 мг / кг в / оч, попередньо розчиненого в холодному цитратному буфері, рН = 4,5. Через 72 години після ін'єкції проводили кількісне визначення глюкози в крові. В подальший експеримент включали тварин, у яких рівень глюкози був не менше 12-15 ммоль / л.

Експерименти проводилися на наступних групах тварин:

1) Група пасивного контролю: введення фізіологічного розчину (ФР) в/оч або перорально в обсязі 10 мл / кг щодня протягом 28 днів;

2) Група активного контролю: введення СТЗ; починаючи з 3-го дня після введення СТЗ - введення ФР в / оч або перорально в обсязі 10 мл / кг щодня протягом 28 днів;

3) Експериментальна група: введення СТЗ; починаючи з 3-го дня після введення СТЗ - введення досліджуваного препарату в / оч або перорально щодня протягом 28 днів.

Дослідження виконані на самцях білих щурів Wistar з початковою масою тіла 250 - 300 г, отриманих з віварію Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ. Щури мали вільний доступ до корму (за винятком 16 год, що передують введенню СТЗ і тесту толерантності до інсуліну) та питної води.

Визначення рівня глюкози проводили за допомогою глюкометра OneTouchUltra (USA) в крові, взятої з хвостової вени щурів в 1, 7, 14, 21, 28 дні введення препаратів (з третього дня після введення СТЗ). Проби для визначення базального рівня глюкози забирали через 2 години після введення досліджуваних речовин.

Для порівняльної характеристики динаміки і вираженості ефекту досліджуваних речовин був розрахований відносний показник антигіперглікемічної активності (Аг) за формулою:

$$A_g = \frac{[ГЛК \text{ (акт. Контр.)} - ГЛК \text{ (р-на)}] \times 100\%}{[ГЛК \text{ (акт. Контр.)} - ГЛК \text{ (пас. Контр.)}]}$$

Де ГЛК (акт. Контр.) - рівень глюкози в плазмі крові в групі СТЗ та ФР, ГЛК (р-на) - рівень глюкози в групах СТЗ і досліджувана речовина, ГЛК (пас. контр.) - рівень глюкози у тварин, яким вводився (ФР).

Морфометричне дослідження проводили з використанням мікроскопа Aristoplan (Leitz, Німеччина) з цифровою камерою DCM-800 (Мікромед, Росія), персонального комп'ютера і програмного забезпечення ScorePhoto при збільшенні x40 й x640.

Отже, із застосуванням вище зазначених методів, нами виявлено виражену антидіабетичну активність афобазолу, що вводили в дозі 10 мг/кг перорально протягом 28 днів. Уже до кінця першого тижня терапії відзначали зниження рівня глікемії у тварин. На 14-й день дослідження в групі тварин з впливом афобазолу рівень глюкози був достовірно нижче рівня активного контролю. Показники відмінностей в абсолютних значеннях глікемії підтверджуються розрахунками антиглікемічного показника Аг. Позитивні значення Аг відзначаються вже на 7-й день введення афобазолу. Важливо підкреслити збереження антигіперглікемічної активності афобазолу протягом 7 днів після відміни лікування (Рис 1.).

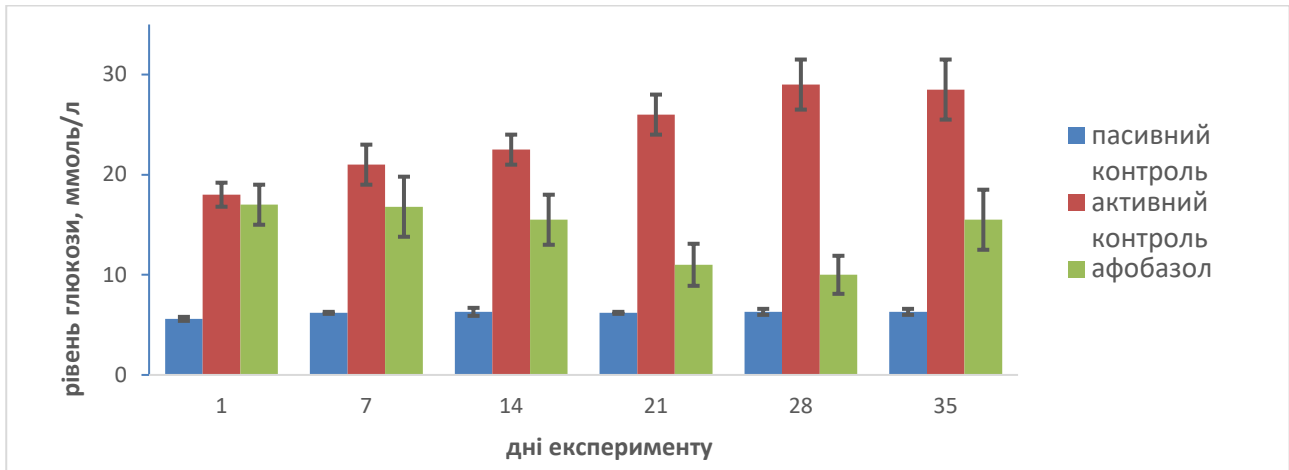


Рисунок 1. Вплив афобазолу на базальний рівень глікемії у щурів Wistar

Тут і далі статистично значущі відмінності ($p < 0,05$, критерій Манна-Уїтні): * - між дослідною групою і активним контролем; ** - між активним контролем і пасивним контролем.

Сприятливий ефект афобазолу проявлявся і за показником динаміки маси тіла. У той час як здорові щури за період експерименту додали в масі (+ 24,4% від вихідного показника), СТЗ викликав спочатку її різку втрату (-2,2% до кінця експерименту), а потім повільне наростання. Афобазол сприяв відновленню маси тіла (приріст на 10,8%), (Рис 2.).

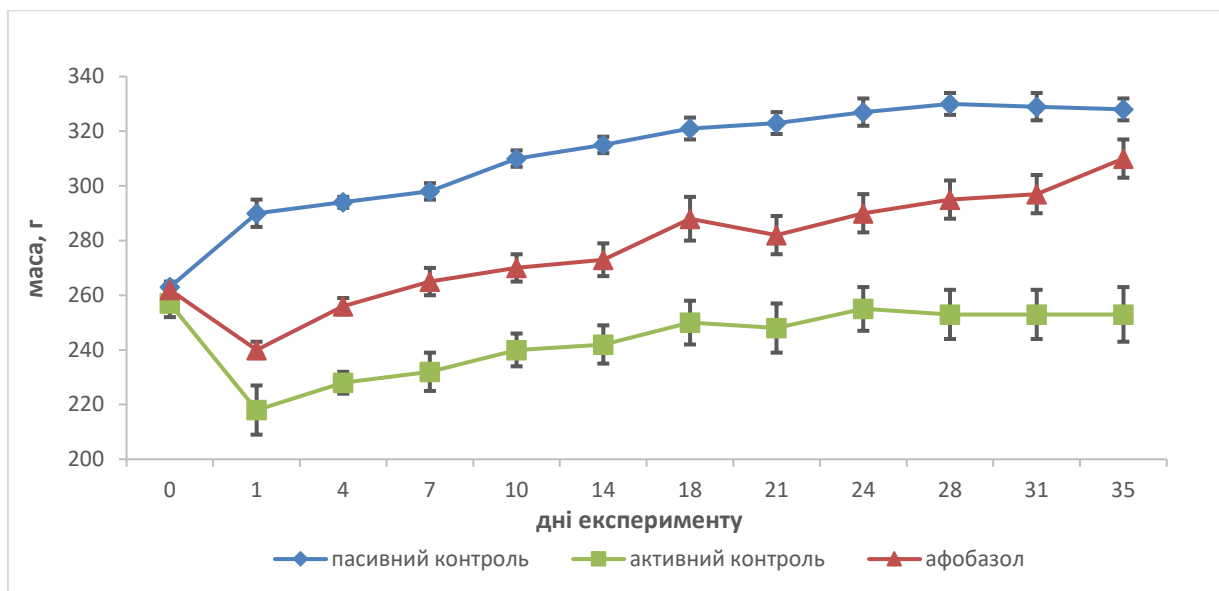


Рисунок 2. Вплив афобазолу на динаміку маси тіла щурів Wistar.

Наявність антидіабетичної активності афобазолу також підтверджується зниженням поліфагії. Якщо на третьому тижні експерименту здорові тварини щодоби споживали $19,2 \pm 1,2$ г корму, у нелікованих діабетичних щурів цей показник досягав $34,4 \pm 2,1$ г / добу; щури, яким вводився афобазол, споживали $25,5 \pm 1,1$ г/добу.

Ефективність препарату відзначена і відносно полідипсії (Рис. 3). У той час як у тварин активного контролю відзначалася виражена спрага (добове споживання води в 2-4,5 разів більше, ніж у здорових), у щурів дослідної групи мало місце статистично значуще скорочення споживання води. На фоні введення афобазолу до 21 дня зареєстровано зниження полідипсії в 1,6 раз, до 28 дня - в 1,8 разів у порівнянні з активним контролем.

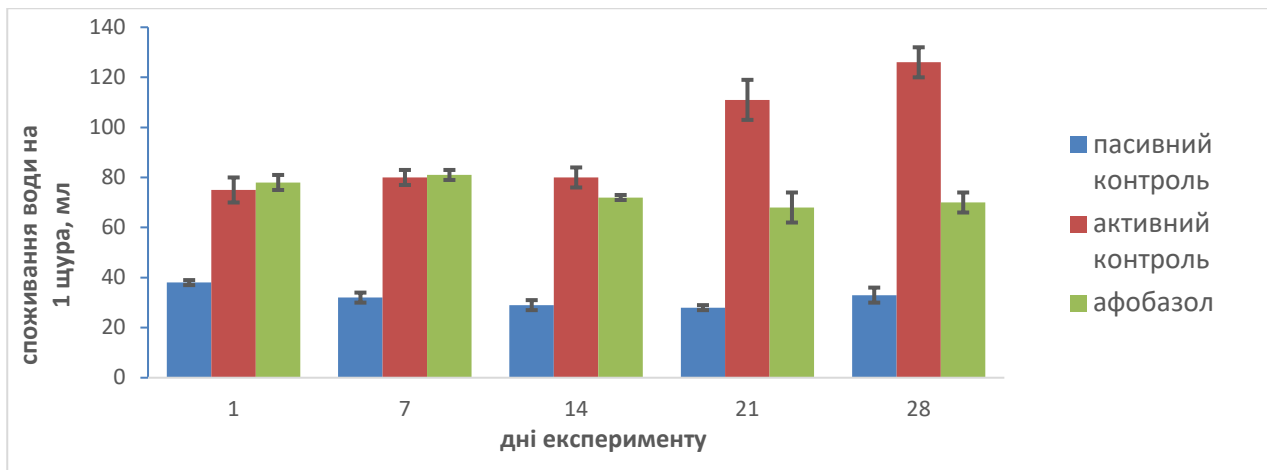


Рисунок 3. Вплив афобазолу на динаміку споживання води.

З використанням цитоморфометричних методів, отримані результати свідчать про зменшення абсолютної і відносної кількості β -клітин у групі нелікованих діабетичних тварин. Панкреатичні острівці щурів цієї групи мали неправильну форму, нерівні контури. Середня площа панкреатичних острівців у таких тварин становила близько 7646 мкм², що в 2,4 рази менше площі острівців здорових тварин. Відсотковий вміст сумарної площі β -клітин у поперечному зрізі залози нелікованих діабетичних щурів склав 5,8%, у той час як у здорових тварин цей показник досягав 20,0%.

Введення щурам з ЦД протягом 28 днів афобазолу призводить до збільшення кількості β -клітин і відновленню їх морфологічних характеристик. Сумарна площа інсуліноцитів на тлі лікування афобазолом вище щодо групи активного контролю в 2,2 рази. Препарат статистично значимо збільшує середню площу панкреатичних острівців.

Висновки.

Результати проведеного дослідження свідчать про наявність антидіабетичної активності у оригінального селективного анксиолітика афобазолу. Морфометрія підшлункової залози дозволила виявити захисну дію афобазолу, що проявилася у відновленні абсолютної і відносної

кількості інсулін-продукуючих β -клітин і нормалізації їх функціонального стану.

Список літератури.

1. Иванов, С.В. NGF-миметик ГК-2 ослабляет накопление маркера оксидативного стресса на модели диабета у крыс Вистар // Всероссийская научная конференция молодых ученых, посвященная 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина «Достижения современной фармакологической науки», 8-10 ноября 2018 года, г.Рязань. – С. 51-53.
2. Иванов, С.В. Изучение нейропротективного действия лития карбоната на модели иммортализованных нейронов гиппокампа // Advances of science: Proceedings of the international scientific conference «World Science», September 28-29, 2018, Czech Republic, Karlovy Vary; Russia, Moscow. – С. 378-384.
3. Иванов, С.В. Антидиабетическая активность солей лития // Advances of science: Proceedings of articles II International scientific conference, March 29-30, 2017, Czech Republic, Karlovy Vary; Russia, Moscow. – С. 105-115.
4. Князева, Л.И. Динамика показателей активности иммунного воспаления у больных сахарным диабетом 2 типа под влиянием терапии // Современные проблемы науки и очазования. – 2012. – №5. – С. 1-5.
5. Ленская, К.В. Инновационные направления поиска лекарственных препаратов для лечения сахарного диабета типа 2 // Вестник ВолгГМУ. – 2011. – №4 (40). – С. 10-18.
6. Антипова, Т.А. Изучение влияния селективного анксиолитика Афобазола на активную каспазу-3 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т.149, №2. – С. 161-165.