

THE INFLUENCE OF NICOTINAMIDE AND PREPARATIONS CONTAINING IT ON THE LEVEL OF OXIDATED AND REDUCED FORMS OF NICOTINAMIDE COENZYMES IN THE RETINA OF RATS WITH STREPTOSOTOCINE DIABETES

V. N. Sakovich, Ahmad Abed Al Raheem Abdallah Aqrabawi

Dnepropetrovsk, Ukraine

Our study nicotinamide and preparations containing it (cytoflavin and catachrom) with advanced form of experimental diabetes on 65 white Wistar rats.. With the development of streptozotocin diabetes after 6 months in the retina of the eye revealed the influence of drugs nikotinamidsoderzhaschih (cytoflavin and catachrom) to the level of oxidized and reduced forms of nicotinamide coenzymes in the retina of rats.



УДК 617.741-004.1:616.379-008.64+615.356:577.164.32]-022.77

ВЛИЯНИЕ ФЛАВОНОИДА РУТОЗИДА НА РАЗВИТИЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ КАТАРАКТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

К. П. Павлюченко, д. мед. н., проф., **С. Ю. Могилевский**, д. мед. н., проф.,

Е. А. Гудзенко, врач

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

У роботі наводяться дані експериментального дослідження. Під спостереженням знаходилися три групи експериментальних тварин — кроликів породи «Шиншила». 1 група — контрольна, 2 група — тварини з експериментальним стрептозотоциновим діабетом, 3 група — тварини з експериментальним стрептозотоциновим діабетом, у яких в раціон живлення був включений біофлавоноід рутозід. Вивчали вплив рутозиду на частоту виникнення і швидкість розвитку діабетичної катаракти. Встановлена виражена антикатарактальна дія рутозиду починаючи з 8 тижня експерименту.

Ключевые слова: экспериментальный диабет, диабетическая катаракта, профилактика, рутозид.

Ключові слова: експериментальний діабет, діабетична катаракта, профілактика, рутозид.

Введение. Главной причиной слепоты и слабости зрения в мире является катаракта. По данным ряда исследователей, число незрячих вследствие этого заболевания составляет более 20 млн [2,4].

Количество таких больных, по всей вероятности, будет расти в связи с увеличением продолжительности жизни населения в большинстве стран мира. Кроме того, в результате повышения уровня общего фона радиации на земном шаре следует ожидать не только увеличения частоты возникновения катаракты, но и развития этого заболевания у лиц более молодого возраста, вследствие чего к 2020 году прогнозируется прирост количества больных с катарактой до 40 млн [4,22].

Доказано, что наличие системной патологии организма значительно повышает риск развития катаракты. Так, давно известен тот факт, что у лиц, страдающих сахарным диабетом (СД), катаракта встречается гораздо чаще [5,14].

Установлено, в частности, что в развитии диабетической катаракты у лиц сравнительно молодого возраста важная роль принадлежит сорбитному пути усвоения глюкозы хрусталиком. Сорбит же накапливается по мере длительности диабета при избытке

глюкозы в ткани хрусталика, сопровождаемом возрастанием активности альдозоредуктазы, катализирующей превращение глюкозы в сорбит, и снижением активности сорбитолдегидрогеназы, окисляющей сорбит до фруктозы. Избыток сорбитола накапливается внутри клеток, поскольку он не может свободно диффундировать через клеточные мембраны. Накопление в клетках сорбитола, обладающего большой осмотической силой, приводит к повышению осмотического давления. Сорбитоловая гиперосмолярность вызывает накопление воды и ионов Na^+ с одновременной потерей ионов K^+ [1,9,12,16].

При диабете, кроме того, углеводы, и прежде всего глюкоза и глюкозо-6-фосфат, способны к неэнзиматическому связыванию с белками в медленно развивающемся процессе гликозилирования. В данное время дискутируется, в частности, роль этих процессов также при возрастной катаракте [24].

При этом в качестве пусковых метаболических нарушений, приводящих к поражению тканей хрусталика, рассматривается повышенный уровень не столько глюкозы, сколько целого ряда метаболи-

© К. П. Павлюченко, С. Ю. Могилевский, Е. А. Гудзенко, 2013

тов углеводно-фосфорного и липидного обменов. К числу подобных метаболитов, в первую очередь, относятся ацетоацетат, метилглиоксаль, диаглицерин, сорбитол, дезоксиглюкоза и другие [7,8,13,15].

Окислительный стресс в настоящее время рассматривается как один из существенных механизмов нарушений компонентов хрусталика при диабете.

Вполне логично предположить, что при диабетической катаракте одной из причин снижения активности защитных систем в хрусталике может быть относительно недостаточное поступление в организм природных биоантиоксидантов и витаминов [3,21,27].

В этой связи, весьма перспективными могут быть исследования, направленные на обоснование использования для повышения потенциала антиоксидантной системы хрусталика таких природных соединений, как биофлавоноиды, обладающие антирадикальной активностью. Особый интерес в этом плане представляет флавоноид рутозид. Рутозид относится к веществам, которые организм человека не способен вырабатывать сам. Поэтому он представляет для него особую ценность [10,17,19,23].

В ряде исследований выявлено, что регулярное применение рутина нормализует состояние стенок капилляров, повышая их прочность и эластичность, снижает артериальное давление, замедляет сердечный ритм. Рутин также участвует в желчеобразовании, стимулирует функцию коры надпочечников. Он сдерживает выработку гистамина и серотонина, обладает противоотечным и обезболивающим действием [11,18,20,25,26].

Цель работы: изучить влияние препаратов рутозида на частоту возникновения и скорость развития помутнений хрусталика при экспериментальном стрептозотоциновом диабете.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Экспериментальные исследования проводились на кроликах породы «Шиншилла» (массой 2,5–3,2 кг), которые содержались на стандартном рационе вивария.

Экспериментальный диабет вызывали путем однократной интравенозной инъекции стрептозотоцина (50 мг на 1 кг массы животного), при этом накануне в течение ночи животные не получали пищи. Контрольным животным проводилась инъекция растворителя стрептозотоцина (10 ммоль цитратного буфера, pH 4,5).

Всего было выделено 3 группы животных: 1 — контрольная группа (9 кроликов), 2 группа — животные с диабетом (7 кроликов), 3 группа — животные с диабетом и применением рутозида (8 кроликов).

Рутозид был суспензирован в карбоксиметил целлюлозе (0,01г/мл), вводился перорально 50 мг/кг [20].

В конце эксперимента все животные были выведены из опыта с помощью летальной дозы пентобарбитола натрия (100 мг на кг вводимого в маргинальную ушную вену).

Проявление и развитие помутнений хрусталика оценивалось в соответствии с Оксфордской системой [28], в которой учитывалось восемь градаций состояния хрусталика:

0 — хрусталик прозрачен, субкапсулярные вакуоли отсутствуют, задний шов узкий с четкими границами (0 баллов);

I стадия — отмечается прозрачное ядро с расширенными швами, а также единичные или множественные, мелкие заднекапсулярные вакуоли (1 балл);

II стадия — слабое уплотнение ядра с помутнениями вокруг швов, множественные мелкие вакуоли преимущественно в заднекапсулярных слоях хрусталика и других его зонах (2 балла);

III стадия — мутное ядро без расщелин, множественные разнокалиберные вакуоли в заднекапсулярных слоях и появление единичных крупных вакуолей в других слоях хрусталика (3 балла);

IV стадия — мутное ядро с наличием расщелин, множественные разнокалиберные вакуоли в субкапсулярных и других зонах хрусталика, наличие мелких точечных помутнений в области заднего шва (4 балла);

V стадия — ядерная катаракта с расщелинами, крупные сливные вакуоли в субкапсулярных слоях и множественные разнокалиберные — в других зонах хрусталика, сливные мелкоточечные помутнения в области заднего шва (5 баллов).

VI стадия — выраженная ядерная катаракта с радиальными помутнениями (6 баллов);

VII стадия — выраженная ядерная катаракта, полностью мутный хрусталик (7 баллов).

Результаты экспериментальных исследований обрабатывались с помощью соответствующих методов статистического анализа с использованием пакета SPSS 11 [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Данные о влиянии рутозида на развитие патологических изменений в хрусталиках кроликов в условиях моделирования диабета представлены в таблицах 1 и 2 и на диаграмме (рис. 1).

На 4 неделе эксперимента 1 хрусталик в группе «диабет» и 6 хрусталиков в группе «диабет+рутозид» оставались прозрачными. В 4 хрусталиках в группе «диабет» и 6 хрусталиках группы «диабет+рутозид» наблюдалось появление единичных или множественных субкапсулярных вакуолей при отсутствии их в других слоях хрусталика. В 4 хрусталиках в группе «диабет» и 4 хрусталиках группы «диабет+рутозид» наблюдались множественные мелкие вакуоли преимущественно в заднекапсулярных слоях хрусталика и других его зонах. В 5 хрусталиках в группе «диабет» отмечались множественные разнокалиберные вакуоли в заднекапсулярных слоях и появление единичных крупных вакуолей в других слоях хрусталика.

На 8 неделе моделирования диабета у кроликов прозрачные хрусталики в экспериментальных группах отсутствовали. В 2 хрусталиках в группе «диабет+рутозид» наблюдалось появление единичных или множественных субкапсулярных вакуолей при отсутствии их в других слоях хрусталика. В 3 хрусталиках наблюдались множественные мелкие вакуоли преимущественно в заднекапсулярных слоях хрусталика и других его зонах. В 4 хрусталиках в группе «диабет» и 4 хрусталиках в группе

«диабет+рутозид» отмечались множественные разнокалиберные вакуоли в заднекапсулярных слоях и появление единичных крупных вакуолей в других слоях хрусталика. В 2 хрусталиках в группе «диабет» и 6 хрусталиках в группе «диабет+рутозид» наблюдались множественные разнокалиберные вакуоли в субкапсулярных и других зонах хрусталика, а также присутствовали мелкие точечные помутнения в области заднего шва. В 4 хрусталиках в группе «диабет» и одном хрусталике в группе «диабет+рутозид» отмечалась V степень помутнения хрусталика. VI и VII степени помутнения хрусталика отмечались в группе «диабет» — в 3 и 1 хрусталике соответственно.

Таблица 1

Влияние рутозида на развитие патологических изменений в хрусталиках кроликов в условиях моделирования диабета

Сроки наблюдения	Степень патологич. изменений	Условия эксперимента			Значимость различий, p
		Контроль 1	Диабет 2	Диабет+рутозид 3	
		Количество глаз			
До начала	0	18	14	16	
4 неделя	0	1	1	6	p=0,0000 p1,2=0,000009 p1,3=0,001903 p2,3=0,008824
	1	—	4	6	
	2	—	4	4	
	3	—	5	—	
	4	—	—	—	
	5	—	—	—	
	6	—	—	—	
	7	—	—	—	
Всего	18	14	16		
8 неделя	0	18	—	—	p=0,0001 p1,2=0,000002 p1,3=0,000001 p2,3=0,006079
	1	—	—	2	
	2	—	—	3	
	3	—	4	4	
	4	—	2	6	
	5	—	4	1	
	6	—	3	—	
	7	—	1	—	
Всего	18	14	16		
16 неделя	0	18	—	—	p=0,0000 p1,2=0,000002 p1,3=0,000001 p2,3=0,000046
	1	—	—	1	
	2	—	—	1	
	3	—	—	2	
	4	—	—	4	
	5	—	2	6	
	6	—	4	2	
	7	—	8	—	
Всего	18	14	16		

Примечание: p — достоверность различий данных между группами по ранговому критерию Крускала-Уоллиса; p1,2, p1,3, p2,3 — достоверность различий данных при попарном сравнении по ранговому критерию Манна-Уитни.

После 16 недель моделирования диабета, в 1 хрусталике в группе «диабет+рутозид» наблюдалось появление единичных или множественных субкапсулярных вакуолей при отсутствии их в

других слоях хрусталика. В 1 хрусталике в группе «диабет+рутозид» наблюдались множественные мелкие вакуоли преимущественно в заднекапсулярных слоях хрусталика и других его зонах. В 2 хрусталиках в группе «диабет+рутозид» отмечалась III степень помутнения хрусталика. IV степень помутнения хрусталика наблюдалась в 4 хрусталиках в группе «диабет+рутозид». В 2 хрусталиках в группе «диабет» и 6 хрусталиках в группе «диабет+рутозид» отмечалась V степень помутнения хрусталика. В 4 хрусталиках в группе «диабет» и 2 хрусталиках в группе «диабет+рутозид» отмечалась VI степень помутнения хрусталика. VII степень помутнения хрусталика отмечалась в группе «диабет» в 8 хрусталиках.

Таблица 2

Влияние рутозида на развитие патологических изменений (средние величины баллов) в условиях моделирования диабета

Сроки наблюдения	Условия эксперимента		
	Контроль 1	Диабет 2	Диабет+рутозид 3
До начала	0	0	0
4 недели	0	1,93	0,88
8 недель	0	4,64	3,06
16 недель	0	6,43	4,19

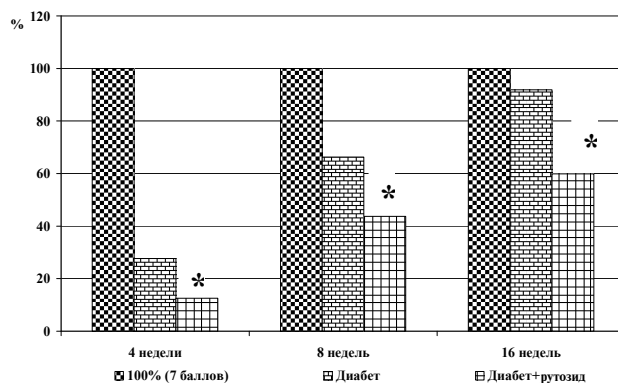


Рис. 1. Относительный уровень патологических изменений в хрусталиках кроликов при применении рутозида в условиях моделирования диабета (в % относительно хрусталиков со зрелой катарактой — 7 баллов)

Примечание: * — достоверные различия данных между группами «Диабет» и «Диабет+ рутозид»

В целом, анализируя полученные результаты, необходимо отметить, что наиболее выраженные патологические изменения в хрусталике животных со стрептозотоциновым диабетом отмечаются после 8 недели эксперимента, хотя достоверная значимость патологических изменений констатируется уже после 4 недели.

Применение рутозида тормозит развитие патологических изменений в хрусталике животных с диабетом. Статистически значимое торможение

рутозидом процессов помутнения хрусталика отмечается с 8 недели ($p=0,0061$). Спустя 16 недель действие рутозида выражено в еще большей степени ($p=0,000046$).

Обобщая полученные результаты, можно отметить, что рутозид обладает существенным антикатарактальным действием при развитии диабетической катаракты. При диабетической катаракте это его действие более выражено по сравнению с его влиянием на развитие возрастной катаракты в эксперименте [3].

ВЫВОД

В условиях эксперимента установлено, что флавоноид — рутозид оказывает выраженное тормозящее действие на развитие диабетической катаракты, особенно значительное — в 8-недельный период и в более поздние сроки.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Воскресенская Л. К.** Патогенез и лечение старческой и диабетической катаракты: автореф. дисс. ... докт. мед. наук: 14.00.16, 14.00.08 «Российский Университет дружбы народов» — М., 1993. — 32 с.
2. **Костровська К. О.** Ефективність хірургічного лікування катаракти у хворих на цукровий діабет: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.18 «ДУ Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім В. П. Філатова АМН України» — Одеса, 2010. — 18 с.
3. **Леус Н. Ф., Гиржева А. В., Журавок Ю. А.** Влияние биофлавоноидов (кверцетина и рутина) на развитие патологических изменений в хрусталике при моделировании возрастной катаракты // Офтальмол. журн. — 2010. — № 6. — С. 60–65.
4. **Мальцев Э. В., Багиров Н. А.** Эпидемиология катаракт // Офтальмол. журн. — 2001. — № 6. — С. 45–49.
5. **Науменко В. Г.** Патогенетична терапія ускладнень цукрового діабету // Междунар. Эндокринолог. Журн. — 2006. — № 1. — Т. 3. — С. 71–77.
6. **Реброва О. Ю.** Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. — М.: Медиа Сфера, 2002. — С. 312.
7. **Afanas'ev I. B., Dorozhko A. I., Brodskii A. V.** Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation // Biochem. Pharmacol. — 1989. — Vol. 38. — № 11. — P. 1763–1769.
8. **Ahmed N., Naqvi F. N., Shafiq F.** Lipid peroxidation and serum antioxidant enzymes in patients with type 2 diabetes mellitus / N. Ahmed, F. N. // Ann. N Y Acad. Sci. — 2006. — Vol. 1084. — P. 481–489.
9. **Biswas S., Harris F. Singh J.** Role of calpains in diabetes mellitus-induced cataractogenesis: a mini review // Moll. Cell Biochem. — 2004. — Vol. 261. — P. 151–159.
10. **Boyle S. P., Dobson V. L., Duthie S. J.** Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study // Eur. J. Clin. Nutr. — 2000. — Vol. 54. — P. 774–782.
11. **Cervantes-Laurean D., Schramm D. D., Jacobson E. L.** Inhibition of advanced glycation end product formation on collagen by rutin and its metabolites // J. Nutr. Biochem. — 2006. — Vol. 17. — P. 531–540.
12. **Datta V., Swift P. G. F., Woodruff G. H. A.** Metabolic cataracts in newly diagnosed diabetes // Arch. Disease Childhood. — 1997. — Vol. 76. — P. 118–120.
13. **Donma O., Yorulmaz E., Pekel H., Suyugul N.** Blood and lens lipid peroxidation and antioxidant status in normal individuals, senile and diabetic cataractous patients // Curr. Eye Res. — 2002. — V. 25. — P. 9–16.
14. **Eman M. A., Eman S. M.** The role of alpha-lipoic acid in streptozotocin-induced diabetic cataract // Romanian J. Biophys. — 2011. — Vol. 21. — P. 73–83.
15. **Hashim Z., Zarina S.** Antioxidant markers in human senile and diabetic cataractous lenses // J. Coll. Physic. Surg. Pak. — 2006. — Vol. 16. — № 10. — P. 637–640.
16. **Hedge K. R., Varma S. D.** Cataracts in experimentally diabetic mouse: morphological and apoptotic changes // Diabetes, Obesity and Metabolism. — 2005. — V. 7. — № 2. — P. 200–204.
17. **Isai M., Sakthivel M., Ramesh E., Thomas P. A.** Prevention of selenite-induced cataractogenesis by rutin in Wistar rats // Mol. Vis. — 2009. — Vol. 15. — P. 2570–2577.
18. **Jaganath I. B., Mullen W., Edwards C. A.** The relative contribution of the small and large intestine to the absorption and metabolism of rutin in man // Free Rad. Res. — 2006. — Vol. 40. — № 10. — P. 1035–1046.
19. **Je H. D., Shin C. Y., Park S. Y.** Combination of vitamin C and rutin on neuropathy and lung damage of diabetes mellitus rats // Arch. Pharm. Res. — 2002. — Vol. 25. — № 2. — P. 184–190.
20. **Kamalakkannan N., Prince S. M.** The influence of rutin on the extracellular matrix in streptozotocin-induced diabetic rat kidney // J. Pharm. Pharmacol. — 2006. — Vol. 58. — № 8. — P. 1091–1098.
21. **Kyselova Z., Stefec M., Bauer V.** Pharmacological prevention of diabetic cataract // J. Diabet. Complicat. — 2004. — Vol. 18. — P. 129–140.
22. **Meyer C. H., Sekundo W.** Nutritional supplementation to prevent cataract formation // Dev. Ophthalmol. — 2005. — V. 38. — P. 103–119.
23. **Nagasawa T., Tabata N., Ito Y.** Dietary G-rutin suppresses glycation in tissue proteins of streptozotocin-induced diabetic rats // Mol. Cell. Biochem. — 2003. — Vol. 252. — P. 141–147.
24. **Obrosova I. G., Chung S. S. M., Kador P. F.** Diabetic cataracts: mechanisms and management // Diabetes. Metab. Res. Rev. — 2010. — Vol. 26. — P. 172–180.
25. **Pashikanti S., Alba D. R., Boissonneault G. A.** Rutin metabolites: novel inhibitors of nonoxidative advanced glycation end products // Free Rad. Biol. Med. — 2010. — Vol. 48. — P. 656–663.
26. **Prince S. M., Kamalakkannan N.** Rutin improves glucose homeostasis in streptozotocin diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes // J. Biochem. Mol. Toxicol. — 2006. — Vol. 20. — № 2. — P. 96–102.
27. **Toh T., Morton J., Coxon J., Elder M. J.** Medical treatment of cataract // Clin. Experiment Ophthalmol. — 2007. — V. 35. — № 7. — P. 664–671.
28. **Zhang S., Chai F. Y.** Effects of N-acetylcysteine and glutathione ethyl ester drops on streptozotocin-induced diabetic cataract // Mol. Vis. — 2008. — Vol. 14. — P. 862–870.

Поступила 11.01.2013.

INFLUENCE OF THE BIOFLAVONOID RUTOSIDE ON DEVELOPMENT OF DIABETIC CATARACT IN AN EXPERIMENT

K. Pavlyuchenko, S. Mogilevskyy, K. Gudzenko
Donetsk, Unraine

In-process cited data experimental research. Under a supervision there were three groups of experimental animals — rabbit. 1 group — control, 2 a group is animals with experimental streptozotocin diabetes, 3 a group is animals with experimental streptozotocin diabetes, at that the bioflavonoid of rutoside was plugged in the ration of feed. Studied influence of rutoside on frequency of origin and speed of development of diabetic cataract. The expressed is set anticataract action of rutoside since 8 week of experiment.



Обзор литературы

УДК 617.7:612.014.461.3

АКВАПОРИНЫ (ВОДНЫЕ КАНАЛЫ): ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

О. И. Сукманский**, **Н. В. Пасечникова***, **В. В. Вит***, **В. А. Науменко***,
И. О. Сукманский***

*Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины;
**Одесский государственный аграрный университет, Институт стоматологии НАМНУ;
***Клинический санаторий «Зеленый мыс»(Одесса).

В обзоре представлены краткие сведения о водных каналах(аквапоринах) глаза и их роли в развитии катаракты, глаукомы и других глазных заболеваний.

Ключевые слова: глаз, аквапорины, водные каналы, трансмембранный транспорт воды

Содержание воды в организме человека составляет в среднем 60 % от массы тела. Большая часть воды (примерно 2/3) находится внутри клеток (интрацеллюлярная жидкость), а меньшая часть — вне клеток (экстрацеллюлярная жидкость) — внутри кровеносных и лимфатических сосудов, а также в межклеточном пространстве [4]. Клеточные мембраны поддерживают разный электролитный состав внеклеточной и внутриклеточной жидкости, что лежит в основе жизненных процессов. Что касается воды, то долгое время считали, что она легко преодолевает биологические мембраны путем простой диффузии, хотя факты и точные расчеты всё более противоречили такой концепции. Открытие трансмембранных водных каналов (аквапоринов), которые обеспечивают быстрый транспорт воды через биологические мембраны всех живых организмов (животных, растений и микроорганизмов) опровергло эту концепцию и явилось выдающимся достижением общей биологии, ботаники, физиологии и медицины [1, 2, 3, 5, 6, 8, 10].

Первый водный канал, получивший позже название «аквапорин 1» (АКП1, AQP1), был открыт в

начале 90-х годов минувшего столетия в мембране эритроцитов американским ученым Agre P., а в 2003 г. ему была присуждена Нобелевская премия «за открытие водных каналов»[10].

К настоящему времени открыто и исследовано более 450 изоформ аквапоринов (АКП), которые относятся к суперсемейству внутримембранных белков (major intrinsic proteins — MIP), насчитывающему более 800 членов) [10,14]. Из них 13 (АКП0—АКП12) — у млекопитающих и несколько сот у других организмов. В зависимости от селективности проницаемости АКП млекопитающих вначале разделили на:

1) ординарные (классические, чистые) аквапорины, проницаемые только для воды (АКП 0, 1, 2, 4, 5, 6, 8);

2) акваглицеропорины, проницаемые для воды, глицерина, мочевины и некоторых других мелких молекул (АКП 3, 7, 9, 10) [8, 10]. Однако позже было установлено, что АКП6 кроме воды транспортирует анионы, а АКП8 — аммиак и перекись водо-

© О. И. Сукманский, Н. В. Пасечникова, В. В. Вит,
В. А. Науменко, И. О. Сукманский, 2013