

ФАРМАКОЛОГИЯ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕАЛИЗАЦИИ АНТИДИАБЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО ОРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ ОКСОВАНАДИЯ (IV) И ВАНАДИЛ СУЛЬФАТА

Г. Н. Алеева, А. П. Киясов, И. М. Бурыкин, Р. Х. Хафизьянова¹

В работе впервые проведена сравнительная оценка нового комплексного соединения оксованадия (IV) с гидразидом изоникотиновой кислоты (препарат № 8) и неорганического соединения — ванадил сульфата, а также проанализирован механизм реализации их антидиабетического действия в аспекте их воздействия на популяции α - и β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы. При проведении терапии препаратом № 8 и ванадил сульфатом крыс с диабетом, было выявлено, что препарат № 8 не уступал по степени гипогликемизирующего действия ванадил сульфату. Используя иммуногистохимические и морфометрические методы, было установлено, что неорганическое соединение ванадил сульфат и препарат № 8 вызывают достоверное повышение количества инсулин-продуцирующих клеток и снижают численность α -клеток поджелудочной железы, количество которых увеличивается при аллоксановом диабете.

Ключевые слова: сахарный диабет, аллоксан, ванадий, α -клетки, β -клетки

ВВЕДЕНИЕ

Изучение соединений ванадия для терапии сахарного диабета обосновывается их способностью проявлять антидиабетическое, антигипертензивное, антиатеросклеротическое и др. свойства [6, 9, 10, 12]. Эффективность отдельных соединений ванадия изучалась в клинических условиях [7, 8, 11].

Соединения ванадия являются перспективными классом для создания лекарств, корригирующих диабет в клинике, и только наличие побочных эффектов является их недостатком и препятствием для широкого внедрения в клиническую практику. Поэтому изучение антидиабетического механизма действия новых органических соединений ванадия представляется актуальным.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 38 белых беспородных крысах массой 150 – 200 г, которым вводили однократно внутривентриально аллоксан в дозе 150 мг/кг, 6 интактным животным вводили внутривентриально в эквиваленте дистиллированную воду.

Животные наблюдались в течение двух недель. Регистрировали следующие показатели: общее состояние, масса тела, потребление пищи и воды. В ходе экс-

периментов было выявлено, что 6 животных из 38 на фоне общего угнетения, полидипсии, полиурии, потери массы тела погибли, что составило 15,7 %. К концу второй недели эксперимента у 19 животных (50 %) развился диабет, сопровождающийся гипергликемией, глюкозурией, полиурией. У 13 животных (34,2 %) эти явления отсутствовали и они были исключены из опыта. Крысы с диабетом были разделены на две опытные группы по 6 особей в каждой, контрольную (7 крыс) и интактная группа животных (6 крыс). Исходный уровень содержания глюкозы крови у интактных животных составил $5,10 \pm 0,40$ ммоль/л, а с диабетом — $10,28 \pm 0,91$ ммоль/л ($p < 0,001$).

Препарат № 8 — биядерное гомолигандное координационное соединение оксованадия (IV), содержащее в структуре гидразид изоникотиновой кислоты (ГИНК), $(VO)_2(OH)_2(ГИНК-N)_2$.² Терапию опытных животных новым органическим соединением ванадия и ванадил сульфатом проводили в течение четырех недель при ежедневном однократном внутривентриальном их введении в эквитоксичных дозах, соответствующих 1/30 от ЛД₅₀ (препарат № 8 – 2,55 мг/кг; ванадил сульфат — 2,47 мг/кг). Соединения синтезированы в лаборатории координационных соединений Казанского государственного университета. Растворы препаратов

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. Р. С. Гараев); кафедра нормальной анатомии (зав. — проф. А. П. Киясов) Казанского государственного университета, Казань, 420012, ул. Бутирова, 49.

² Патент на изобретение № 2190618 “Новое комплексное соединение оксованадия (IV) с гидразидом изоникотиновой кислоты, обладающее антидиабетическим действием и проявляющее антимикобактериальную активность”, Москва, 10.10.2002.

приготавливали непосредственно перед их введением. Контрольной группе больных диабетом и интактным животным вводили по той же схеме внутривенно в эквиваленте дистиллированная вода.

В конце курса терапии у животных брали кровь для определения глюкозы. Диабет считали развившимся при гипергликемии более 8,32 ммоль/л. Уровень сахара определяли ортотолуидиновым методом со стандартным набором реактивов. По окончании эксперимента животных декапитировали под эфирным наркозом. Хвостовую часть поджелудочной железы выделяли и фиксировали в формалине; затем кусочки заливали в парафин по стандартной методике. Для выявления α - и β -клеток островков Лангерганса использовали поликлональные антитела к инсулину и глюкагону (DAKO, Denmark). Для визуализации мест связывания антител использовали свиные антитела, конъюгированные с пероксидазой против иммуноглобулина кролика и LSAB-kit, DAKO [3]. Морфометрический анализ проводили на серийных срезах окрашенных с антителами к инсулину и глюкагону, с использованием компьютеризированной морфометрической системы, на базе программы созданной для оценки динамики изменения соотношения между α - и β -клеточными популяциями. Определяли процентное соотношение между площадями занимаемыми клетками содержащими инсулин и глюкагон к общей площади островка, которую брали за 100 %. Результаты экспериментов подвергались статистической обработке с учетом *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе лечения животных препаратами ванадия общетоксического воздействия их на организм не было отмечено. Животные лучше потребляли пищу, их двигательная и исследовательская активность была выше, чем у нелеченых крыс.

Исследуемое новое органическое соединение ванадия препарат № 8 достоверно снижал на 42,3 % уровень сахара крови при 4-недельной терапии крыс с диабетом. Неорганическое соединение ванадия — ванадил сульфат в эквитоксичной дозе при курсовом введении оказывал выраженное гипогликемизирующее действие, снижая содержание глюкозы на 47,6 % ($p < 0,01$). Сахароснижающее действие препаратов проявилось у животных с тяжелым течением диабета,

так как концентрация глюкозы в крови у контрольных животных в конце эксперимента составила $19,88 \pm 2,55$ ммоль/л и превысила ее достоверно на 397 % у интактных животных ($4,00 \pm 0,57$ ммоль/л).

Иммуногистохимическое исследование плотности α - и β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы крыс с развившимся диабетом показало, что через 6 нед у данной группы регистрировали выраженный дисбаланс исследуемых клеточных популяций, что характерно для данной экспериментальной модели [1].

Как видно из табл. 1, плотность α -клеток в островках Лангерганса поджелудочной железы крыс с диабетом достоверно повышена на 129,9 % по сравнению со здоровыми. Курс терапии препаратами № 8 и ванадил сульфатом в дозах, соответствующих 1/30 от ЛД₅₀, приводил к достоверному снижению площади глюкагонпродуцирующих α -клеток на 54,3 и 51,1 % соответственно.

В дозе 150 мг/кг аллоксан, наряду с повышением плотности α -клеток, вызывал резкое снижение (на 88,8 %) плотности β -клеток ($p < 0,001$) в островках Лангерганса поджелудочной железы крыс с диабетом (табл. 2). Курс терапии препаратами ванадия односторонне способствовал повышению плотности инсулинпродуцирующих клеток в поджелудочной железе крыс обеих опытных групп. Препараты проявили тропность по отношению к β -клеткам и достоверно увеличили их количество: препарат № 8 на 297,2 %, а ванадил сульфат на 283 %.

При экспериментальном диабете у лабораторных животных и при сахарном диабете у человека и 1-го и 2-го типов в поджелудочной железе выявляется уменьшение количества β -клеток, синтезирующих инсулин. Детально описана гибель β -клеток в результате различного рода повреждений, которая в последующем влечет за собой нарушение межклеточных взаимоотношений, регулирующих функциональную активность эндокринного аппарата поджелудочной железы в целом [2, 4, 5]. Однако целенаправленного изучения антидиабетических препаратов, обладающих способностью восстанавливать β -клеточную популяцию не проводили. Поэтому, стратегия поиска новых лекарственных средств в диабетологии должна быть направлена на изыскание новых антидиабетических средств,

Таблица 1. Влияние органических соединений ванадия и ванадил сульфата в дозе 1/30 от ЛД₅₀ на плотность α -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы крыс

Группа животных	<i>M</i> ± <i>m</i>	К диабету		К интактным	
		%	<i>p</i>	%	<i>p</i>
Интактные	28,95 ± 3,8	—	—	100,0	—
Диабетные	66,58 ± 6,68	100,0	—	229,9	< 0,001
Диабет + препарат № 8	30,45 ± 2,05	45,7	< 0,001	105,2	> 0,05
Диабет + ванадил сульфат	32,55 ± 2,20	48,9	< 0,001	112,4	> 0,05

Таблица 2. Влияние органического соединения ванадия и ванадил сульфата при курсовом введении в дозе 1/30 от ЛД₅₀ на плотность β-клеток островков Лангерганса поджелудочной железы крыс

Группа животных	M ± m	К диабету		К интактным	
		%	p	%	p
Интактные	77,19 ± 3,09	–	–	100,0	–
Диабетные	8,65 ± 1,63	100,0	–	11,2	< 0,001
Диабет + препарат № 8	34,36 ± 6,25	397,2	< 0,001	44,5	< 0,001
Диабет + ванадил сульфат	33,13 ± 7,47	383,0	< 0,001	42,9	< 0,001

способных предохранять оставшиеся резидуальные клетки, а также стимулировать обновление β-клеточного пула в островках Лангерганса.

ВЫВОД

Сравнительная оценка терапевтического действия органического соединения ванадия и эталонного препарата — ванадил сульфата позволяет заключить, что обладающий меньшей токсичностью, препарат № 8 по силе гипогликемизирующего действия, по способности корректировать дисбаланс α- и β-клеточных популяций не уступает ванадил сульфату.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Н. Алеева, А. П. Киясов, М. М. Миннебаев и др., *Бюл. экпер. биол.*, **133**(2), 151 – 154 (2002).
2. Н. И. Громнацкий, *Диабетология*, ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, Москва (2002).

3. А. П. Киясов, *Современные технологии морфологических исследований*, Казань (2001).
4. C. Bernard-Kargar and A. Ktorza, *Diabetes*, **50**(Suppl.1), 30 – 35 (2001).
5. S. Bonner-Weir, *Diabetes*, **50**, 20 – 24 (2001).
6. S. M. Brichard and J. C. Henquin, *Trends Pharmacol. Sci.*, **16**, 265 – 272 (1995).
7. N. Cohen, M. Halberstam., P. Shiimovich, et al., *Clin. Invest.*, **95**, 2501 – 2509 (1995).
8. M. Halberstam., N. Cohen, P. Shlimovich, et al., *Diabetes*, **45**, 659 – 666 (1996).
9. I. Goldwaser, Q. Sun, E. Gershonov, et al., *Molecular Pharmacology*, **58**, 738 – 746 (2000).
10. E. Shafir, S. Spielman, I. Nachliel, et al., *Diab. Res. Rev.*, **17**, 55 – 66 (2001).
11. J. Somerville and B. Davies, *Am. Heart J.*, **64**, 54 – 56 (1992).
12. G. Wang, V. Yuen and J. H. McNeill, *Molecular and Cellular biochemistry*, **218**, 93 – 96 (2000).

Поступила 25.04.03.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE CELL MECHANISMS OF ANTIDIABETIC ACTION OF A NEW ORGANIC DERIVATIVE OF VANADIUM(IV) OXIDE AND VANADYL SULFATE

G. N. Aleeva, A. P. Kiyasov, I. M. Burykin, and R. Kh. Khafiz'yanova

Kazan State Medical University, ul. Butlerova 49, Kazan, Tatarstan, 420012 Russia

The antidiabetic effect of a new organic derivative of vanadium(IV) oxide with isonicotinic acid hydrazide (compound no. 8), as manifested by the action upon the α and β cell populations in Langerhans islands of the pancreas, was studied in rats with alloxane diabetes model in comparison to the analogous effect of the inorganic drug vanadyl sulfate. The hypoglycemic activity of compound no. 8 was comparable with that of vanadyl sulfate. The results of immunohistochemical and morphometric investigation showed that both preparations produced a reliable increase in the population of insulin-producing cells and a decrease in the (alloxane-enhanced) population of [α] cells in the pancreatic islands.