

ВЛИЯНИЕ НАТУРАЛЬНОГО БИОКОРРЕКТОРА ИЗ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* НА УРОВЕНЬ ИНСУЛИНА И ГЛЮКОЗЫ НА МОДЕЛИ ДИАБЕТА 2-го ТИПА ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА В ОРГАНИЗМ

Е.В. Орлова¹, В.С. Орлова², Г.А. Плужникова³

¹ГУ ГНЦ РАМН,

Ново-Зыковский проезд, 4А, Москва, Россия

²Экологический факультет, Российский университет дружбы народов,

Подольское ш., 8/5, 113093, Москва, Россия

³МГУ им М.В. Ломоносова, биологический факультет,

Ленинские горы, Москва, Россия

В данной работе была показана нормализация уровня глюкозы и инсулина на модели диабета 2-го типа у крыс Wistar в результате применения натурального биокорректора из *S. cerevisiae*.

Ухудшение экологической ситуации во многих регионах мира, в том числе и в России, сопровождающееся увеличением неблагоприятных факторов антропогенного характера, послужило основанием для экспертов ВОЗ объявить сахарный диабет неинфекционной «экологической» эпидемией в связи с резким ростом этого заболевания (Балаболкин, 1998). Самой распространенной формой его является сахарный диабет типа 2 (около 95% больных), который в основном встречается у лиц зрелого и пожилого возраста, но нарушенная экология, неправильный образ жизни, различные стрессовые ситуации раздвинули привычные характеристики диабета.

В связи с этим исследования по изучению натуральных препаратов, способных нормализовать уровень глюкозы и инсулина в крови, представляются весьма своевременными и важными.

Целью данной работы явилось изучение натурального биокорректора из *Saccharomyces cerevisiae* (European Patent: W096/38353) на уровень инсулина и глюкозы на модели диабета 2-го типа при разных способах введения препарата в организм: 1). *Per os* (при приеме с питьем), 2). Внутривнутренное введение, 3). Внутривенное введение.

Материалы и методы. 1. Действие биокорректора при приеме *per os* (с питьевой водой). Действие биокорректора, принимаемого с питьевой водой, оценивали на интактных взрослых крысах — самцах линии Wistar, массой тела 180-200 г и крысах, достигших такого же возраста, у которых предварительно в условиях лаборатории вырабатывали экспериментальную модель инсулин-независимого диабета (второго типа) по методу (Portha, 1989). Для этого у здоровых крыс получали потомство. Затем новорожденным крысам пятидневного возраста внутривнутренно вводили стрептозотоцин (фирмы Sigma) в дозе 100 мг/кг веса, растворенного *ex tempore* в цитратном буфере pH 4,5. О развитии диабетического симптомокомплекса судили по нарастающему гликемии, которая определялась перманентно повышенной к 8 неделям после введения стрептозотоцина. В эксперимент отбирали крыс, у которых содержание глюкозы в крови превышало 10.0 мМ.

Для проведения эксперимента интактных крыс и крыс с диабетом второго типа распределяли на группы (по 8 животных в каждой группе) и в течение 3 недель животные получали биокорректор, растворенный в питьевой воде из расчета 100, 500 и 1000 мг/кг веса тела. В ходе эксперимента через 7, 14 и 21 день у крыс отбирали кровь из хвостовой вены, осаждали белки с помощью 5,5% трихлорук-

сусной кислоты (ТХУ), центрифугированием отделяли осадок, а в супернатанте определяли содержание глюкозы глюкозооксидазным методом (Trinder, 1969). Инсулин определяли радиоиммунологическим методом с помощью коммерческих наборов РИА-инсулин (Минск, Беларусь).

2. Изучение эффектов биокорректора, введенного внутривенно.

В опыте использовали intactных крыс самцов, линии Wistar, массой тела 180-200 г, голодавших перед опытом в течение 24 часов. Биокорректор вводили внутривенно из расчета 1,0 г/кг массы тела, препарат растворяли в физиологическом растворе и вводили в объеме 1,0 мл. В качестве контроля использовали крыс, которым в том же объеме вводили физиологический раствор и глюкозу (500 мг/кг). Действие биокорректора оценивали в сравнении с действием глюкозы. После введения препаратов крыс забивали декапитацией и через 15, 30, 45 и 60 минут собирали кровь.

3. Эффекты биокорректора при внутривенном введении.

В эксперименте использовали intactных крыс-самцов, линии Wistar, массой 180-200 г, которые предварительно голодали в течение 24 часов. Биокорректор растворяли в физиологическом растворе из расчета 500,0 мг/кг массы тела и вводили в объеме 0,4 мл в подключичную вену животным, предварительно наркотизированным нембуталом (60 мг/кг). Действие биокорректора оценивали по изменению содержания инсулина в крови. Контролем служили крысы, которым вводили физиологический раствор. В качестве положительного контроля в опыте использовали группу крыс, которым внутривенно вводили глюкозу в том же количестве и том же объеме, что и биокорректор. Как известно, внутривенное введение глюкозы сопровождается выраженным повышением концентрации инсулина в крови, которое отмечается уже в первые минуты после введения. Поэтому, животных декапитировали через 5 минут после введения исследуемых соединений, собирали кровь, отделяли сыворотку и радиоиммунологическим методом определяли в ней содержание инсулина.

Обсуждение результатов. В табл. 1 представлены результаты по влиянию биокорректора на содержание глюкозы и инсулина в крови intactных крыс, получавших препарат *per os* с питьевой водой в течение 3 недель. Здесь представлены данные с использованием широкого диапазона концентраций препарата.

Таблица 1

Влияние биокорректора на содержание глюкозы и инсулина в крови у intactных крыс Wistar

Группа	Доза биокорректора, мг/кг	Кол-во животных	Исходный уровень		Через 7 дней	
			инсулин, мкЕД/мл	глюкоза, мМ	инсулин, мкЕД/мл	глюкоза, мМ
1	100	8	14.3±0.7	4.9±0.26	14.3±0.7	5.17±0.2
2	500	8	12.8±0.8	5.0±0.26	12.8±0.8	5.26±0.29
3	1000	8	12.0±0.7	5.0±0.18	12.0±0.7	5.16±0.23
Группа	Доза биокорректора, мг/кг	Кол-во животных	Через 14 дней		Через 21 день	
			инсулин, мкЕД/мл	глюкоза, мМ	инсулин, мкЕД/мл	глюкоза, мМ
1	100	8	14.3±0.7	5.25±0.32	14.3±0.7	5.21±0.3
2	500	8	12.8±0.8	5.32±0.24	12.8±0.8	4.78±0.32
3	1000	8	12.0±0.7	4.89±0.3	12.0±0.7	4.76±0.31

Достоверность различий в группах определяли в сравнении с исходным уровнем глюкозы и инсулина. Р во всех группах < 0.05.

Видно, что биокорректор ни в одной из используемых доз не изменял содержания глюкозы и инсулина в крови intactных крыс. Это означает, что в условиях intactного организма, при сохраненных механизмах регуляции функции островков

Лангерганса, биокорректор, принимаемый *per os* с питьевой водой, не изменяет функциональной активности инсулярного аппарата.

Иным образом проявляется действие биокорректора на крысах с диабетом 2-го типа (табл. 2).

Таблица 2

**Влияние биокорректора на содержание глюкозы и инсулина
в крови у крыс с диабетом второго типа**

Группа	Доза биокорректора, мг/кг	Кол-во животных	Исходный уровень		Через 7 дней	
			инсулин, мкЕД/мл	глюкоза, мМ	инсулин, мкЕД/мл	глюкоза, мМ
1	100	7	9.7±0.7	20.8±0.41	13.8±0.5	8.3±0.60
2	500	7	7.9±0.8	21.5±0.30	13.1±0.6	8.7±0.41
3	1000	8	6.4±0.7	21.9±0.34	12.9±0.3	8.9±0.34
Группа	Доза биокорректора, мг/кг	Кол-во животных	Через 14 дней		Через 21 день	
			инсулин, мкЕД/мл	глюкоза, мМ	инсулин, мкЕД/мл	глюкоза, мМ
1	100	7	14.2±0.7	5.1±0.25	14.1±0.7	5.4±0.31
2	500	7	13.6±0.5	5.4±0.24	13.0±0.2	5.5±0.32
3	1000	8	12.0±0.7	5.8±0.30	12.7±0.7	5.7±0.30

Достоверность различий в группах определяли в сравнении с исходным уровнем глюкозы и инсулина. Р во всех группах < 0.05.

Как свидетельствуют полученные результаты, у крыс с диабетом второго типа, биокорректор при всех используемых *per os* дозах вызывал достоверное снижение содержания глюкозы в крови уже через неделю после начала приема препарата. Положительный гипогликемический эффект биокорректора наблюдали на протяжении 3 недель поступления препарата *per os*.

Как известно, диабет второго типа характеризуется снижением чувствительности островковых клеток к глюкозе. Гипергликемия при этом часто выявляется на фоне нормального или даже повышенного количества инсулина, циркулирующего в крови. Снижение глюкозы под влиянием биокорректора во всех экспериментальных группах сопровождалось ростом секретируемого инсулина. Можно предположить, что гипогликемический эффект биокорректора обусловлен его влиянием на островковые клетки и увеличением их чувствительности к глюкозе.

Изучение эффектов биокорректора, введенного внутривенно. Эксперимент включал девять групп животных (по 6 крыс в каждой группе) и схематически отражен ниже:

Группа	Вводимый препарат	Время действия препарата, мин
1	Физиологический раствор	15
2	глюкоза	15
3	глюкоза	30
4	глюкоза	45
5	глюкоза	60
6	биокорректор	15
7	биокорректор	30
8	биокорректор	45
9	биокорректор	60

В этом опыте у животных в одни и те же временные интервалы определяли содержание в крови глюкозы и инсулина. Это давало возможность проследить динамику поступления глюкозы в кровь и отметить соответствующие этому колебания инсулина.

Как свидетельствуют полученные результаты (табл. 3) при внутривенном введении глюкозы ее содержание в крови через 15 минут значительно возрастало. Оно оставалось повышенным на протяжении 45 минут и через 60

минут практически возвращалось к исходному уровню. В ответ на увеличение глюкозы в крови увеличивалось количество инсулина. При внутрибрюшинном введении биокорректора не обнаружено выраженных изменений в количестве циркулирующего инсулина. В соответствии с этим, количество глюкозы в крови существенно не менялось.

Полученные результаты позволяют заключить, что при внутрибрюшинном введении биокорректора в дозе 1 г/кг массы не оказывает существенного влияния на эндокринную функцию поджелудочной железы intactных крыс.

Таблица 3

Влияние биокорректора, введенного внутрибрюшинно на содержание глюкозы и инсулина в крови intactных крыс

Препарат	Время действия, мин	Глюкоза крови, мМ	Инсулин крови, мкЕд/мл
Физ. раствор	15	4.5±0.6	4.9±0.7
Глюкоза	15	8.6±0.3	7.6±0.2
Глюкоза	30	5.6±0.2	10.2±0.6
Глюкоза	45	5.3±0.4	8.3±0.3
Глюкоза	60	4.9±0.2	6.0±0.8
Биокорректор	15	6.4±0.5	6.7±0.7
Биокорректор	30	5.8±0.3	6.2±0.4
Биокорректор	45	5.8±0.2	7.4±0.2
Биокорректор	60	5.5±0.3	6.0±0.5

В таблице указана достоверность $p < 0,05$ данных в сравнении с физиологическим раствором:

Эффекты биокорректора при внутривенном введении. Полученные результаты, отраженные в табл. 4, наглядно демонстрируют, что биокорректор в дозе 500 мг/кг, введенный внутривенно, уже через 5 минут после введения вызывал достоверное увеличение количества иммунореактивного инсулина в крови. Стимуляция биокорректором секреции инсулина при непосредственным введением в кровоток коррелирует, по-видимому, с его инсулинотропным действием на изолированные островковые клетки. Можно предположить, что отмеченный быстрый эффект биокорректора на секрецию инсулина обусловлен его сложным химическим составом и, в частности, наличием ряда аминокислот, некоторые из которых, например лейцин, наряду с глюкозой, являясь известными метаболическими регуляторами секреции инсулина. Следует учитывать также, что в состав биокорректора входят некоторые соединения: например, железо, кобальт и др., которые по данным литературы, также участвуют в регуляции функциональной активности островкового аппарата, стимулируя секрецию инсулина (Fagm, 1987; Orcelikay, 1994; Ramanadham, 1989).

Таблица 4

Влияние биокорректора, введенного внутривенно, на уровень инсулина в крови intactных крыс

№ п/п	Инсулин крови (мкЕд/мл) крыс, получавших		
	физраствор	биокорректор	глюкоза
1	68	173	239
2	88	135	314
3	93	102	138
4	82	166	270
5	42	128	280
6	86	174	215
7	74	179	196
8	52	154	300
М±м	73±06	150±07	244±09

Достоверные различия даны в сравнении с физиологическим раствором.

Суммируя полученные результаты можно сделать следующие выводы:

1. В условиях интактного организма биокорректор, принимаемый в течение 3 недель с питьем в диапазоне доз 100,0-1000,0 мг/кг массы тела, не влиял на содержание глюкозы и инсулина в крови, т.е. биокорректор не изменял функциональной активности инсулярного аппарата поджелудочной железы в условиях сохраненных механизмов регуляции гомеостаза.
2. У крыс с диабетом 2-го типа биокорректор, вводимый пер ос в тех же дозах, проявлял четкий гипогликемический эффект. Гипогликемическое действие биокорректора во всех случаях сопровождалось повышением уровня инсулина в крови.
3. Внутривентрикулярное введение биокорректора в дозе 1 г/кг массы тела не оказывало существенного влияния на эндокринную функцию поджелудочной железы интактных крыс.
4. Внутривенное введение биокорректора в дозе 500 мг/кг массы тела уже через пять минут вызывало достоверное ($P < 0,05$) увеличение количества иммунореактивного инсулина в крови. Выявленный быстрый эффект натурального биокорректора следует рассматривать, вероятно, как результат стимулирующего влияния на островковые клетки ряда веществ, входящих в его состав и являющихся известными метаболическими регуляторами секреции инсулина (аминокислоты, ионы некоторых металлов и др.).

ЛИТЕРАТУРА

- Балаболкин М. И. Эндокринология. - М.: 1998. - С. 438-470.
 Portha B. et al. Diabetes. - Metabolism. - 1989. - v. 15. - P. 61-75.
 Trinder P. Ann. Clin. Biochem. - 1969. - v. 6. - P. 24-32.
 Fagm J.A. et al. Diabetes. - 1987. - v. 36. - №12. - P. 1448-1457.
 Orcelikay A.T. et al. Diabetologia. - 1994. - v. 37. - № 6. - P. 572-581.
 Ramanadham S. et al. Am. J. Physiology. - 1989. - v. 257. - P. 904-912.

DIFFERENT TYPES INJECTION INTO LIVING ORGANISM OF NATURAL BIOCORRECTOR FROM *S. CEREVISIAE* INFLUENCE ON DIABETES TYPE 2 GLUCOSE AND INSULIN LEVELS

E.V. Orlova¹, V.S. Orlova², G.A. Pluzhnikova³

¹Scientific Research Hematology Center of Russian Academy of Medical Sciences,
 Noviy Zykovskiy St., 4a Russia, Moscow

²Ecological Faculty, Russian Peoples' Friendship University,
 Podolskoye shosse, 8/5, 113093, Moscow, Russia

³Moscow State University, Biological faculty,
 Leninskie gory, Russia, Moscow

In this paper glucose and insulin levels normalization on influence by natural biocorrector from *S. cerevisiae* on diabetes 2 type model was shown.