

ВЛИЯНИЕ ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ НА ОБМЕН СИАЛОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

© И.В. Вольхина¹, Е.Г. Бутолин², Е.А. Скворцова²

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России;

²ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, Ижевск

Для цитирования: Вольхина И.В., Бутолин Е.Г., Скворцова Е.А. Влияние липоевой кислоты на обмен сиалосодержащих соединений в плазме крови крыс с аллоксановым диабетом // Педиатр. – 2018. – Т. 9. – № 5. – С. 36–40. doi: 10.17816/PED9536-40

Поступила в редакцию: 28.08.2018

Принята к печати: 11.10.2018

Окислительный стресс является одним из маркеров хронических заболеваний, в том числе сахарного диабета. К природным неферментным антиоксидантам относится липоевая (тиоктовая) кислота, которая также необходима для работы мультиферментных комплексов, катализирующих окислительное декарбоксилирование пирувата, α -кетоглутарата и других α -кетокислот, и, следовательно, играет важную роль в процессе получения энергии в аэробных условиях. Сиаловые кислоты относятся к полифункциональным соединениям, входящим в состав различных углеводсодержащих соединений (собственно гликопротеинов, протеогликанов, ганглиозидов), в том числе белков острой фазы крови. Целью нашей работы было сравнительное изучение влияния липоевой кислоты на показатели обмена сиалосодержащих соединений плазмы крови крыс при аллоксановом диабете. Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г в осенне-зимний период. Животные были разделены на три группы: первая – интактные крысы, у животных второй и третьей групп вызывали инсулинзависимый сахарный диабет однократным подкожным введением аллоксана тетрагидрата. Крызуны третьей группы получали липоевую кислоту внутримышечно. Степень развития окислительного стресса оценивали по содержанию ТБК-активных продуктов в крови. Их показатели сравнивали с концентрациями глюкозы, свободных, олиго- и белоксвязанных сиаловых кислот в крови на 5, 10, 20, 30 и 40-й день эксперимента. Обнаружено, что на фоне введения липоевой (тиоктовой) кислоты экспериментальным животным понижается уровень гликемии, снижается интенсивность процессов окислительного стресса, а также уменьшается содержание свободных и олигосвязанных сиаловых кислот в плазме крови.

Ключевые слова: окислительный стресс; ТБК-активные продукты; липоевая кислота; аллоксановый диабет; сиало-гликопротеины; сиаловые кислоты.

EFFECT OF LIPOIC ACID ON THE EXCHANGE OF SIALO-CONTAINING COMPOUNDS IN RATS BLOOD PLASMA WITH ALLOXAN DIABET

© I.V. Volkhina¹, E.G. Butolin², E.A. Skvorsova²

¹St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia;

²Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia

For citation: Volkhina IV, Butolin EG, Skvorsova EA. Effect of lipoic acid on the exchange of sialo-containing compounds in rats blood plasma with alloxan diabet. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2018;9(5):36-40. doi: 10.17816/PED9536-40

Received: 28.08.2018

Accepted: 11.10.2018

Oxidative stress is one of the markers of chronic diseases, including diabetes. Lipoic (tioctic) acid refers to natural non-enzyme antioxidants which is also necessary for the operation of multienzyme complexes catalyzing oxidative decarboxylation of pyruvate, α -ketoglutarate and other α -keto acids, and a poet omu plays an important role in the process of obtaining energy under aerobic conditions. Sialic acids are related to polyfunctional compounds that are part of various carbohydrate-containing compounds (glycoproteins, proteoglycans, gangliosides), including acute blood proteins. The purpose of the study was a comparative study of the influence of lipoic acid lots on the exchange rates of compounds containing sialic acids in the blood plasma of rats with alloxan diabetes. Studies were conducted on white mongrel rats – males weighing 180-220 grams in the autumn-winter period. The animals were divided into three groups: the first – intact rats, in animals of the second and third groups, insulin-dependent diabetes mellitus (DM) was caused by a single subcutaneous injection of alloxan tetrahydrate. Rodents of the third group received lipoic acid intramuscularly. The degree of development of oxidative stress was assessed by the content of TBA-active products in the

blood. Their indicators were compared with the concentrations of glucose, free, oligo- and protein-bound sialic acids in the blood on days 5, 10, 20, 30 and 40 of the experiments. It was found that on the background of the introduction of lipoic (thioctic) acid to experimental animals, there is a decrease in the level of glycemia, a decrease in the processes of oxidative stress and indicators of free and oligo-related sialic acids in blood plasma.

Keywords: oxidative stress; thiobarbituric acid-reactive substances; lipoic acid; alloxan diabetes; sialoglycoproteins; sialic acid.

Сахарный диабет (СД) представляет собой серьезную медико-социальную проблему, что обусловлено высокой распространенностью данного заболевания, хроническим его течением, ежегодным увеличением числа больных [2].

В патогенезе СД важная роль принадлежит развитию окислительного стресса. Одним из мощных природных антиоксидантов является липоевая (тиоктовая) кислота (ЛК), которая также необходима для работы мультиферментных комплексов, катализирующих окислительное декарбоксилирование пирувата, α -кетоглутарата и других α -кетокислот, и поэтому имеет большое значение в процессе получения энергии в аэробных условиях. Липоевая кислота при сахарном диабете позитивно влияет на показатели углеводного обмена. Применение данного антиоксиданта повышало чувствительность к инсулину, улучшало показатели гликемии [1, 11]. Высокая эффективность α -липоевой кислоты доказана многочисленными экспериментальными и клиническими исследованиями [3, 10, 13].

Сиаловые кислоты (СК) — производные нейраминной кислоты, которые входят в состав различных низко- и высокомолекулярных соединений, являясь терминальными моносахаридными остатками в составе гликопротеинов и ганглиозидов. Среди представителей сialogликопротеинов широко представлена группа острофазных белков крови: α_1 -кислый гликопротеин (орозомукоид), нейтрофильный липокалин, α_1 -макроглобулины, α_2 -микроглобулин фертильности и др. У больных СД отмечается повышение содержания белков острой фазы [5, 6]. Данные литературы позволяют утверждать, что практически любые экстремальные воздействия на организм и воспалительные процессы приводят к повышению уровня общих и свободных сиаловых кислот в крови и тканях [4, 7, 9, 12].

Целью настоящего исследования было сравнительное изучение влияния липоевой кислоты на показатели обмена сиалосодержащих соединений плазмы крови крыс при аллоксановом диабете.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г в осенне-зимний период. В постановке опытов руководствовались

правилами проведения работ с экспериментальными животными.

Животные были разделены на три группы: первая — интактные крысы, у животных второй и третьей групп вызывали инсулинзависимый СД однократным подкожным введением аллоксана тетрагидрата (Fluka Chemica, Швеция) в дозе 170 мг/кг массы тела животного [8]. В каждой группе было от 6 до 12 животных. После индукции диабета, начиная с 4-го по 40-й день эксперимента крысы третьей группы (СД + ЛК) ежедневно получали липоевую кислоту в дозе 5 мг/100 г массы внутримышечно [1]. В плазме крови определяли концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом (Human, Германия). Степень развития окислительного стресса оценивали по уровню ТБК-активных продуктов (ТБКАП) в крови (набор реактивов «ТБК-Агат», Россия). Содержание свободных, олиго- и белоксвязанных сиаловых кислот (ССК, ОСК и БСК соответственно) в плазме крови определяли с помощью «СиалоТеста» (НПЦ «Эко-Сервис», Россия). Все изучаемые показатели исследовали на 5, 10, 20, 30 и 40-й день эксперимента.

Статистическую обработку проводили с помощью пакета Statistica 6.0 фирмы StatSoft. Оценку значимости полученных данных (p) в сравниваемых выборках осуществляли с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У контрольных животных содержание глюкозы в плазме крови составило $6,05 \pm 0,12$ ммоль/л. Количество ТБКАП в плазме крови равнялось $1,08 \pm 0,06$ мкмоль/л.

Согласно полученным данным (табл. 1) концентрация глюкозы в плазме крови крыс 2-й и 3-й групп статистически значимо превышала контрольные значения на протяжении всего эксперимента. Максимальные значения данного показателя наблюдались на 30-й день у крыс с аллоксановым диабетом, составляя $21,53 \pm 3,61$ ммоль/л ($p < 0,05$).

В серии СД уровень ТБКАП в плазме крови превышал контрольные значения на протяжении всего опыта, кроме 5-го дня исследований. Содержание

Таблица 1 / Table 1

Содержание глюкозы, ТБК-активных продуктов и показателей обмена сиалосодержащих биополимеров в плазме крови крыс с аллоксановым диабетом после коррекции липоевой кислотой

The content of glucose, TBCAP and indicators of biopolymers containing sialic acids in the blood plasma of rats with alloxan diabetes after correction with lipoic acid

Показатель, серия эксперимента / Indicator, a series of experiment		Дни эксперимента / Days of experiment					
		Контроль / Control	5-й / 5 th	10-й / 10 th	20-й / 20 th	30-й / 30 th	40-й / 40 th
Глюкоза, ммоль/л / Glucose, mmol/l	СД D	6,05 ± 0,12	13,05 ± 1,86*	14,34 ± 1,16*	8,84 ± 0,73*	21,53 ± 3,61*	11,98 ± 1,15*
	СД + ЛК D + LA		7,73 ± 0,59*	14,16 ± 1,9*	7,49 ± 0,29*	9,73 ± 0,33*	8,44 ± 0,38*
ТБКАП, мкмоль/л / ТВААР, mkmol/l	СД D	1,08 ± 0,06	1,55 ± 0,35	2,56 ± 0,13*	2,98 ± 0,50*	11,76 ± 0,79*	3,75 ± 0,62*
	СД + ЛК D + LA		1,03 ± 0,11	2,08 ± 0,38*	2,91 ± 0,51*	2,79 ± 0,21*	1,27 ± 0,10
ССК, ммоль/л / FSA, mmol/l	СД D	0,072 ± 0,002	0,106 ± 0,008*	0,196 ± 0,012*	0,207 ± 0,006*	0,255 ± 0,049*	0,299 ± 0,007*
	СД + ЛК D + LA		0,143 ± 0,008*	0,163 ± 0,009*	0,130 ± 0,009*	0,153 ± 0,005*	0,194 ± 0,006*
ОСК, ммоль/л / OSA, mmol/l	СД D	0,124 ± 0,004	0,138 ± 0,035	0,136 ± 0,008	0,217 ± 0,033*	0,231 ± 0,029*	0,318 ± 0,005*
	СД + ЛК D + LA		0,131 ± 0,007*	0,156 ± 0,009*	0,113 ± 0,005*	0,136 ± 0,004*	0,18 ± 0,004*
БСК, ммоль/л / PSA, mmol/l	СД D	2,10 ± 0,04	2,69 ± 0,27*	2,77 ± 0,06*	2,76 ± 0,11*	2,82 ± 0,16*	2,69 ± 0,08*
	СД + ЛК D + LA		2,86 ± 0,13*	2,57 ± 0,06*	2,67 ± 0,08*	2,59 ± 0,06*	2,96 ± 0,12*

Примечание: *различие с контролем статистически значимо ($p < 0,05$); СД — сахарный диабет; ТБКАП — ТБК-активные продукты; ССК — свободные сиаловые кислоты; ОСК — олигосвязанные сиаловые кислоты; БСК — белоксвязанные сиаловые кислоты; ЛК — липоевая кислота.

Notes: *the difference with control is statistically significant ($p < 0,05$).

ССК и БСК в плазме крови животных было выше контрольных значений во все сроки эксперимента. Наиболее значительное повышение содержания ТБКАП и БСК наблюдалось на 30-й день исследований, составляя $11,76 \pm 0,79$ мкмоль/л и $2,82 \pm 0,16$ ммоль/л ($p < 0,05$) соответственно. Концентрация ОСК также оставалась выше уровня контрольных животных на 10, 20, 30 и 40-й день эксперимента.

У животных, получавших липоевую кислоту на фоне СД, уровень ТБКАП был выше контрольных значений во все сроки исследований, за исключением 5-го и 40-го дней опытов. При этом данные значения ТБКАП были ниже, чем у крыс 2-й группы, кроме 20-го дня эксперимента. Концентрации ССК и БСК в плазме

крови грызунов были выше контрольных значений на протяжении всех дней опытов. Наиболее значительное повышение содержание ССК наблюдалось на 40-й день и составляло $0,194 \pm 0,006$ ммоль/л ($p < 0,001$). Максимальное увеличение концентрации БСК отмечалось на 40-й день и равнялось $2,96 \pm 0,12$ ммоль/л ($p < 0,001$). Уровень ОСК в плазме крови статистически значимо был выше контрольных значений во все исследуемые дни, кроме 20-го ($0,113 \pm 0,005$ ммоль/л).

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о снижении уровня гликемии и показателей окислительного стресса в плазме крови животных с аллоксановым диабетом на фоне введения липоевой кислоты. При этом выявля-

ны однонаправленные изменения в содержании свободных и олигосвязанных сиаловых кислот в плазме крови данной группы экспериментальных крыс в сторону нормализации показателей, которые также могут указывать на уменьшение степени влияния экстремальных воздействий на организм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волчегорский И.А., Рассохина Л.М., Мирошниченко И.Ю. Инсулинпотенцирующее действие антиоксидантов при экспериментальном сахарном диабете // Проблемы эндокринологии. – 2010. – Т. 56. – № 2. – С. 27–35. [Volchegorskiy IA, Rassokhina LM, Miroshnichenko IY. Insulin-potentiating action of antioxidants in experimental diabetes mellitus. *Problems of endocrinology*. 2010;56(2):27-35. (In Russ.)]. doi: 10.14341/probl201056227-35.
2. Дедов И.И. Сахарный диабет – опаснейший вызов мировому сообществу // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – Т. 67. – № 1. – С. 7–13. [Dedov II. Diabetes mellitus – a dangerous treat to the mankind. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2012;67(1):7-13. (In Russ.)]
3. Занозина О.В., Рунов Г.П., Боровков Н.Н., Сорокина Ю.А. Альфа-липоевая кислота в коррекции электромиографических характеристик диабетической дистальной полинейропатии: фокус на маркеры окислительного стресса // Эффективная фармакотерапия. – 2015. – № 32. – С. 10–14. [Zanozina OV, Runov GP, Borovkov NN, Sorokina YA. Alpha-Lipoic Acid in Correction of Electromyographic Parameters of Diabetic Distal Polyneuropathy: the Markers of Oxidative Stress Emphasized. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2015;(32):10-14. (In Russ.)]
4. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения). – СПб., 2007. [Zaychik AS, Churilov LP. Patokhimiya (endokrinno-metabolicheskie narusheniya). Saint Petersburg; 2007. (In Russ.)]
5. Климонтов В.В., Тян Н.В., Фазуллина О.Н., и др. Белки острой фазы воспаления и адипоцитокينات в сыворотке крови у женщин с сахарным диабетом 2-го типа: взаимосвязи с составом тела и колебаниями уровня глюкозы в крови // Терапевтический архив. – 2016. – Т. 88. – № 10. – С. 35–41. [Klimontov VV, Tyan NV, Fazullina ON, et al. Acute-phase serum proteins and adipocytokines in women with type 2 diabetes mellitus: Relationships with body composition and blood glucose fluctuations. *Terapevticheskii arkhiv*. 2016;88(10):35-41. (In Russ.)]
6. Лазуткин М.Н., Намоконов Е.В., Миromanov А.М., и др. Диагностическая значимость цитокинов и белков острой фазы в прогнозе гнойно-воспалительных осложнений стопы у больных сахарным диабетом // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2009. – Т. 91. – № 8. – С. 21–23. [Lazutkin MN, Namokov EV, Miromanov AM, et al. Diagnostic significance of cytokines and proteins of acute phase in the prognosis of development of purulent-inflammatory complications of foot in the patients with diabetes mellitus. *Sibirskii meditsinskii zhurnal (Irkutsk, Russia)*. 2009;91(8):21-23. (In Russ.)]
7. Миллер Д.А., Миллер Т.М., Некрасова И.Л., и др. Сиаловые кислоты – показатель активности воспаления СОЖ у больных хроническим гастритом // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2013. – № 10. – С. 36–37. [Miller DA, Miller TM, Nekrasova IL, et al. Sialovye kisloty – pokazatel' aktivnosti vospaleniya SOZh u bol'nykh khronicheskim gastritom. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2013;(10):36-37. (In Russ.)]
8. Пальчикова Н.А., Селятицкая В.Г., Шорин Ю.П. Количественная оценка чувствительности экспериментальных животных к диabetогенному действию аллоксана // Проблемы эндокринологии. – 1987. – Т. 33. – № 4. – С. 65–68. [Pal'chikova NA, Selyatitskaya VG, Shorin YP. Quantitative assessment of the sensitivity of experimental animals to the diabetogenic action of alloxan. *Problems of endocrinology*. 1987;33(4):65-68. (In Russ.)]
9. Протасова С.В., Бутолин Е.Г., Оксюзан А.В. Обмен углеводсодержащих биополимеров в печени и слизистой желудка при экспериментальном диабете у крыс с различной устойчивостью к стрессу // Сахарный диабет. – 2010. – Т. 13. – № 1. – С. 10–12. [Protasova SV, Butolin EG, Oksuzyan AV. Metabolism of carbohydrate-containing biopolymers in liver and gastric mucosa of rats with experimental diabetes and varying stress resistance. *Diabetes mellitus*. 2010;13(1):10-12. (In Russ.)]. doi: 10.14341/2072-0351-6010.
10. Строков И.А., Фокина А.С. Альфа-липоевая кислота – основное фармакологическое лечение диабетической полинейропатии в стационаре и поликлинике // Медицинский совет. – 2016. – № 17. – С. 28–33. [Strokov IA, Fokina AS. α-Lipoic acid as the main pharmacological drug for in- and outpatient treatment of diabetic polyneuropathy. *Meditsinskiy sovet*. 2016;(17):28-33. (In Russ.)]
11. Kocak G, Aktan F, Canbolat O, et al. Alpha-lipoic acid treatment ameliorates metabolic parameters, blood pressure, vascular reactivity and morphology of vessels already damaged by streptozotocin-diabetes. *Diabetes Nutr Metab*. 2000;13(6):308-318.
12. Rajappa M, Ikkruthi S, Nandeeshha H, et al. Relationship of raised serum total and protein bound sialic

- acid levels with hyperinsulinemia and indices of insulin sensitivity and insulin resistance in non-diabetic normotensive obese subjects. *Diabetes Metab Syndr.* 2013;7(1):17-19. doi: 10.1016/j.dsx.2013.02.030.
13. Ziegler D. Thioctic acid for patients with symptomatic diabetic polyneuropathy: a critical review. *Treat Endocrinol.* 2004;3(3):173-189. doi: 10.2165/00024677-200403030-00005.

◆ Информация об авторах

Ирина Витальевна Вольхина — канд. биол. наук, доцент, кафедра биологической химии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: volchinaiv@gmail.com.

Евгений Германович Бутолин — д-р мед. наук, профессор, кафедра биологической химии. ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия», Ижевск. E-mail: butoline@mail.ru.

Елена Аркадьевна Скворцова — аспирант кафедры биохимии. ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия», Ижевск. E-mail: skvor0280@mail.ru.

◆ Information about the authors

Irina V. Volkhina — PhD, Associate Professor, Department of Biological Chemistry. St. Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: volchinaiv@gmail.com.

Evgenii G. Butolin — MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Department of Biological Chemistry. Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia. E-mail: butoline@mail.ru.

Elena A. Skvorsova — graduate student of the Department of Biochemistry. Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia. E-mail: skvor0280@mail.ru.