

УДК

ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА НА ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМПОНЕНТ КРОВИ КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

¹Адельянов А.В., ¹Горобченко О.А., ¹Николов О.Т., ¹Гаташ С.В., ²Горбенко Н.И.

¹Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Харьков, Украина

²Институт проблем эндокринной патологии имени В.Я. Данилевского АМН Украины, Харьков, Украина
e-mail: adel_yil@mail.ru

Поступила в редакцию 15.03.2010

В работе проведено исследование влияния кверцетина на диэлектрические параметры сыворотки, плазмы и суспензии эритроцитов крыс с моделью сахарного диабета 1 типа. С помощью метода СВЧ-диэлектрметрии обнаружено уменьшение значения статической диэлектрической проницаемости (ϵ_s) сыворотки и плазмы крови больных крыс по сравнению с контролем. Установлено восстанавливающее действие кверцетина на диэлектрическую проницаемость сыворотки, плазмы и разбавленной плазмы. Кроме того, показано увеличение разности между значениями статической диэлектрической проницаемости сыворотки и разбавленной плазмы у крыс с диабетом по сравнению с контролем. Данные отклонения могут быть обусловлены изменениями в ионном и белковом составе крови больных диабетом крыс. При терапии кверцетином эта разница несколько уменьшается. При диабете наблюдается увеличение значений ϵ_s суспензий эритроцитов. Добавление кверцетина к диете приводит к уменьшению этого показателя.

Ключові слова: СВЧ-диэлектрметрія, сыворотка, плазма, эритроциты, сахарный диабет 1 типа, кверцетин, фибриноген.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет 1 типа - органоспецифическое аутоиммунное заболевание, которое приводит к разрушению инсулинпродуцирующих бета-клеток островков поджелудочной железы, проявляющееся абсолютным дефицитом инсулина [1]. Основное значение в деструкции бета-клеток придается факторам клеточного иммунитета [1]. Диабет 1 типа составляет 10-15% от всех случаев диабета, и, в большинстве случаев развивается у молодых людей (детей, подростков, взрослых людей до 40 лет) [2]. При развитии инсулиновой недостаточности в организме инсулинзависимые ткани (печёночная, жировая и мышечная) теряют способность утилизировать глюкозу крови, вследствие чего развивается гипергликемия – главный диагностический признак сахарного диабета [3]. Далее происходит трансформация субстратов катаболизма жиров и белков печенью в кетоновые тела, которые используются инсулиннезависимыми тканями (главным образом мозгом) для поддержания энергетического баланса на фоне инсулиновой недостаточности [3]. Кроме того, глюкозурия, полиурия, дегидратация организма также имеют место при гипергликемии. При полиурии развивается дефицит катионов натрия, калия, кальция и магния, анионов хлора, фосфора и гидрокарбоната [4]. При недостатке инсулина в организме в крови накапливается холестерин, который может откладываться на стенках сосудов, сужая кровотоки,

что приводит к поражению глаз, печени, мозга и других важных органов [5].

Нарушения, характеризующие сахарный диабет, отражаются как на периферических тканях, так и на крови в организме. Состояние воды в крови крайне чувствительно к изменениям, происходящим с находящимися в ней компонентами [6]. Поэтому представляется актуальным как с научной точки зрения, так и с практической, исследование состояния воды в крови при сахарном диабете, что может способствовать выбору адекватных способов коррекции нарушений, связанных с этой болезнью. В этом отношении перспективным является природный флавоноид кверцетин, исследованию антиоксидантных свойств которого уделяют пристальное внимание исследователи [7, 8].

Эффективным методом исследования состояния воды в биосистеме является метод СВЧ-диэлектрметрии [9]. Таким образом, целью настоящей работы было исследование влияния кверцетина на диэлектрические характеристики компонент крови крыс с экспериментальной моделью сахарного диабета 1 типа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе исследовали кровь крыс популяции Вистар из питомника Института проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины с экспериментальными моделями сахарного диабета 1 типа. Исследования проводились согласно "Общим принципам экспериментов на животных", которые соответствуют положениям Европейской

конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей [10]. Диабет у самцов крыс весом 180-190 г вызывали одноразовым внутривенным введением стрептозотоцина в дозе 75 мг/кг массы тела. Через 2 недели после развития диабета животных с базальной гликемией более чем 14 ммоль/л включали в эксперимент. Препарат "Квертин" производства ЗАО НВЦ «Борщяговский химико-фармацевтический завод» (состав, мг/г: кверцетин 40; пектин 400; лактозы моногидрат 363,5; сорбитол 160; ароматизатор порошкоподобный 1,5; тальк 30; магния стеарат 5) крысам вводили перорально с помощью зонда в виде водной суспензии в дозе 50 мг кверцетина на 1 кг массы тела на протяжении 2 недель. Группа крыс, больных диабетом, по аналогичной схеме получала плацебо (состав плацебо мг/г: пектин 440; лактозы моногидрат 363,5; сорбитол 160; ароматизатор порошкоподобный 1,5; тальк 30; магния стеарат 5). Все исследуемые животные были разделены на 3 группы: 1-контроль, 2-диабет+плацебо, 3-диабет+плацебо+кверцетин в дозе 50 мг/кг массы тела.

Кровь экспериментальных крыс стабилизировали раствором цитрата натрия. Сыворотку получали по стандартной методике [11]. Сыворотка в результате получалась разбавленной физиологическим раствором в соотношении 1:1, поэтому для удобства сравнения образцов между собой плазму крови также разводили физиологическим раствором в соотношении 1:1 (разбавленная плазма).

Эритроциты отмывали в физиологическом растворе 3 раза. Суспензии эритроцитов получали из отмытых эритроцитов разведением физиологическим раствором в соотношении 1:3.

Действительную и мнимую части комплексной диэлектрической проницаемости (ϵ' и ϵ'') образцов крови измеряли с помощью СВЧ-диэлектromетра резонаторного типа на рабочей частоте 9,2 ГГц. Резонатор имеет форму цилиндра с волной H_{01n} с аксиальным расположением образца. Погрешности измерения ϵ' и ϵ'' не превышали 0,5% и 1,25% соответственно. Температура измерялась с точностью 0,1 °С. Подробное описание метода СВЧ-диэлектromетрии дано в [9].

Статическую диэлектрическую проницаемость и частоту диэлектрической релаксации молекул воды в образцах рассчитывали по формулам Дебая, приведённым в работе [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе были получены значения статической диэлектрической проницаемости ϵ_s плазмы, разбавленной плазмы и сыворотки 3 групп самцов крыс. Данные по ϵ_s образцов представлены на рис. 1. Как видно из рисунка, при диабете происходит уменьшение абсолютных значений ϵ_s как плазмы, разбавленной плазмы, так и сыворотки.

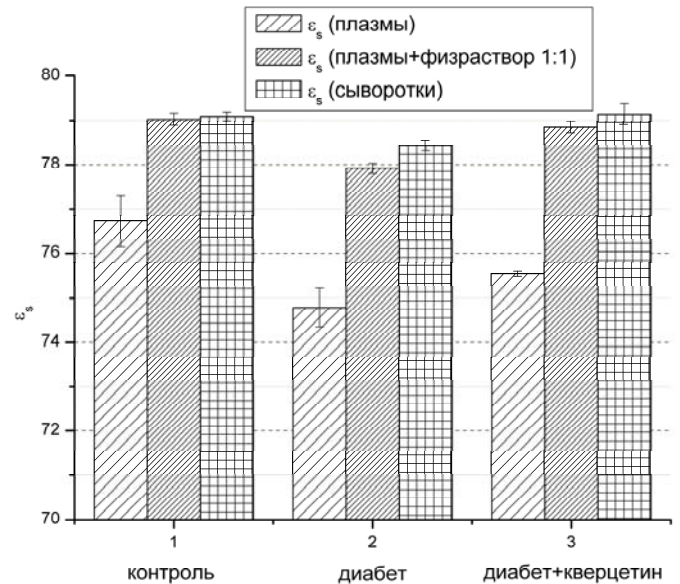


Рис. 1. Значения статической диэлектрической проницаемости плазмы, разбавленной плазмы и сыворотки: 1 – контрольных, 2 – больных диабетом и 3 – больных диабетом с терапией кверцетином крыс.

Статическая диэлектрическая проницаемость является параметром, характеризующим состояние воды в системе. По ней мы можем судить о количественном соотношении свободная/связанная вода. Поэтому понижение ϵ_s может свидетельствовать об уменьшении количества свободной воды как в сыворотке, так и в плазме крови. Известно, что сопутствующими отклонениями при инсулиновой недостаточности являются распад жиров в жировой ткани и распад белков в мышечной ткани, что приводит к повышенному поступлению жиров и аминокислот в кровь [3]. У детей сахарный диабет 1 типа сопровождается нарушениями липидного обмена сыворотки крови атерогенного характера (повышение общего холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов низкой и очень низкой плотности) [1]. Возможно, эти изменения в организме при развитии сахарного диабета и обуславливают уменьшение количества объёмной воды в крови. Терапия кверцетином приводит к повышению данных значений ϵ_s и приближению их к контрольным. Кроме того из рис. 1 видно, что при диабете происходит увеличение разности между ϵ_s сыворотки и разбавленной плазмы. Известно, что у больных сахарным диабетом наблюдается повышенный уровень фибриногена в крови [13]. Кроме фибриногена (фактора свёртывания крови I), в процессе свёртывания крови принимают участие множество других макромолекул (тромбин, тромбозиназа, фибриназа, проакцелерин) и ионов (ионизированный кальций), хотя часть факторов свёртывания остаются в сыворотке [11]. Изменения в белково-ионном составе плазмы при диабете должны отражаться на увеличении разности между ϵ_s разбавленной плазмы и сыворотки, поскольку все

факторы свёртывания крови эффективно связывают воду.

На рис. 2 приведены значения частоты диэлектрической релаксации f_d молекул воды в плазме, разбавленной плазме и сыворотке 3 групп самцов крыс.

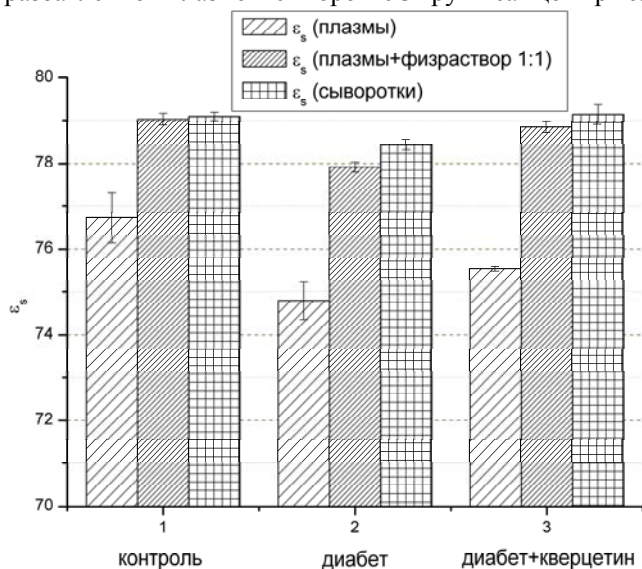


Рис. 2. Значения частоты диэлектрической релаксации молекул воды в плазме, разбавленной плазме и сыворотке: 1 – контрольных, 2 – больных диабетом и 3 – больных диабетом с терапией кверцетином крыс.

Из рис. 2 можно видеть, что при диабете происходит понижение значений частоты f_d как в сыворотке и плазме, так и в разбавленной плазме. Поэтому можно говорить не только о перераспределении объёмной и связанной воды, но и о изменении степени упорядоченности объёмной воды. Это, в свою очередь, согласуется с возможным накоплением в плазме крови продуктов ПОЛ, повышенным содержанием жиров и аминокислот. При терапии кверцетином имеется тенденция к повышению частоты диэлектрической релаксации в плазме и разбавленной плазме. Для сыворотки такой тенденции не наблюдается, наоборот значение f_d понижается. Все это свидетельствует об отсутствии положительного влияния кверцетина на состояние свободной воды в биологических жидкостях, либо о незначительном его влиянии.

Далее были рассчитаны те же диэлектрические параметры для суспензий эритроцитов 3 групп самцов крыс. На рис. 3 представлены значения статической диэлектрической проницаемости ϵ_s суспензий эритроцитов с концентрацией 25%. Как видно из рисунка, при диабете наблюдается увеличение статической диэлектрической проницаемости суспензий эритроцитов по сравнению с контролем. Такой характер изменения ϵ_s свидетельствует о том, что происходит дегидратация эритроцитов, что может быть обусловлено активизацией ПОЛ [14]. Действительно, при экспериментальном сахарном диабете у крыс имеет место активизация ПОЛ,

вследствие чего происходит нарушение липидного спектра мембран эритроцитов (снижение содержания общих липидов и фракции фосфатидилхолина (ФХ) при повышении уровня фракций лизофосфатидилхолина и фосфатидилинозитола; увеличение содержания насыщенных и снижение уровня ненасыщенных жирных кислот во фракциях ФХ и фосфатидилэтаноламина; повышение микровязкости глубоких и модификацией наружных слоёв мембран эритроцитов) [4].

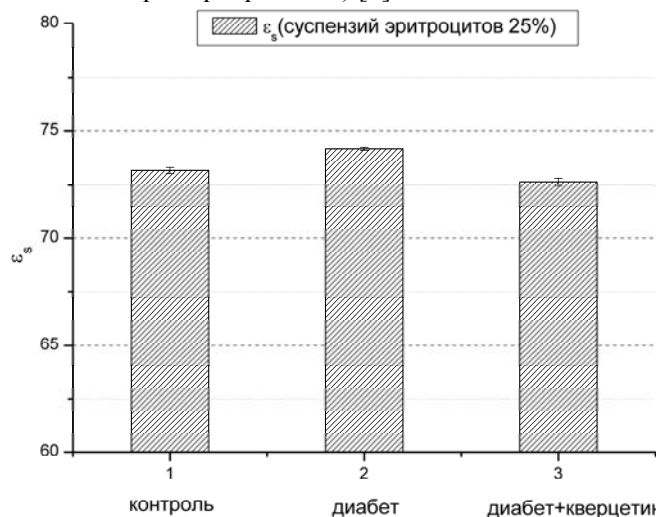


Рис. 3. Значения статической диэлектрической проницаемости суспензий эритроцитов в концентрации 25%: 1 – контрольных, 2 – больных диабетом и 3 – больных диабетом с терапией кверцетином крыс.

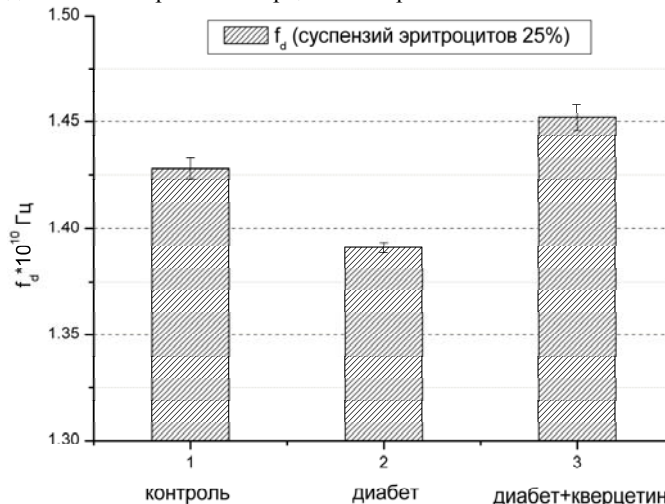


Рис. 4. Значения частоты диэлектрической релаксации молекул воды в суспензиях эритроцитов в концентрации 25%: 1 – контрольных, 2 – больных диабетом и 3 – больных диабетом с терапией кверцетином крыс.

Таким образом, имеет место увеличение жёсткости мембранного бислоя эритроцитов [15], что может приводить к уменьшению количества связываемой мембраной воды. Кроме того, при сахарном диабете наблюдается увеличение количества аномальных эритроцитов в кровяном русле (эхиноцитов, стоматоцитов, сфероцитов и старых эритроцитов), происходит снижение их эластичности и подвижности [5]. При агрегации эритроцитов [16,

17] происходит перекрывание гидратационных слоёв близко расположенных клеток, что, в свою очередь, отражается на уменьшении гидратации эритроцитов. При кормлении крыс кверцетином для суспензий эритроцитов в концентрации 25% наблюдается уменьшение значения ϵ_s , что может свидетельствовать о восстановлении гидратационных свойств мембран эритроцитов. Такой характер изменения ϵ_s свидетельствует о положительном влиянии кверцетина на эритроциты крови.

Значения частоты диэлектрической релаксации молекул воды f_d в суспензиях эритроцитов концентрации 25% приведены на рисунке 4. При диабете наблюдается уменьшение частоты f_d по сравнению с контролем. Поскольку при этом происходит увеличение значений ϵ_s , то можно говорить об увеличении количества свободной (объёмной) воды, хотя эта вода становится более упорядоченной, возможно, за счет образования дополнительных водородных связей. Кормление крыс кверцетином приводит к увеличению частоты f_d по сравнению с диабетическими образцами и даже некоторому его превышению по сравнению с контролем. Сравнивая f_d со значениями ϵ_s для суспензий эритроцитов, можно прийти к выводу, что кверцетин способствует переходу свободной воды в связанное состояние, однако в оставшейся в свободном состоянии воде уменьшается количество водородных связей, что приводит к увеличению её подвижности.

ВЫВОДЫ

Показано, что в плазме, разбавленной плазме и сыворотке крови крыс с экспериментальной моделью сахарного диабета по сравнению с контрольными образцами наблюдается уменьшение статической диэлектрической проницаемости ϵ_s . Установлено также, что в плазме, разбавленной плазме и сыворотке крови больных крыс имеет место уменьшение частоты диэлектрической релаксации молекул воды. Показано, что у всех исследованных образцов терапия кверцетином увеличивает значение ϵ_s , приближая его к контролю. Кроме того, при диабете наблюдается увеличение разности между значениями статической диэлектрической проницаемости сыворотки и разбавленной плазмы, что может быть обусловлено изменениями в белковом и ионном составе плазмы при диабете.

Было установлено, что в суспензиях эритроцитов концентрации 25% при диабете по сравнению с контрольными образцами наблюдается увеличение значения статической диэлектрической проницаемости ϵ_s . Терапия кверцетином приводит к восстановлению ϵ_s и приближению значения данного параметра к контрольному значению. При диабете в

суспензиях эритроцитов по сравнению с контролем происходит уменьшение значения частоты диэлектрической релаксации молекул воды. Следовательно можно говорить об увеличении количества кластеров молекул воды при диабете. Терапия кверцетином приводит к увеличению значения частоты диэлектрической релаксации молекул воды и некоторому превышению его над контролем. В целом можно сказать о положительном влиянии кверцетина на диэлектрические параметры суспензий эритроцитов при диабете.

Литература

1. Балаболкин М.И. Сахарный диабет, М.: Медицина, 1994. - 321 С.
2. Бриско П. Диабет. Вопросы и ответы. - М.: Изд-во "Крон-Пресс", 1997. - 156 с.
3. Лавин Н. Эндокринология. - М. Практика, 1999. - 1128 с.
4. Алмазов В. А. Клиническая патофизиология: Учеб. пособие для студентов вузов. - М.: ВУНМЦ, 1999. - 300 с.
5. Алмазов В.А., Благодосклонная Я.В., Шлякто Е.В., Красильникова Е.И. Метаболический сердечно-сосудистый синдром. - СПб.: Изд-во СПбГМУ, 1999. - 208 с.
6. Ахадов Я. Ю. Диэлектрические свойства бинарных растворов. - М.: Наука, 1977. - 400 с.
7. Kanner J., Frankel E., Grant R. et al Natural Antioxidants in Grapes and Wines // Food Chem. - 1994. - Vol. 42, №1. - P. 64-69.
8. Lapidot T., Harel S., Akiri B. Et al. pH-Dependet Forms of Red Wine Antocycyains as Antioxidants // Food chem. - 1999. - Vol. 47. - P. 67-70.
9. Николов О.Т., Жилиякова Т.А. Измерение комплексной диэлектрической проницаемости жидких диэлектриков с большими потерями // Журнал физической химии. - 1991. - Т. 65, № 5. - С. 1417-1420.
10. Доклинические исследования лекарственных способов: (метод. рекомендации) / Под ред. Стефанова О.В. - К., 2001. - С. 9-98.
11. Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. - М.: Медицина, 1975. - 384 с.
12. Дебай П. Полярные молекулы. - М.: 1931. - 245 с.
13. Михайлова Е.В., Чиркова Л.Д., Балаболкин М.И., Клебанова Е.М. Применение пиявита при сахарном диабете // Сахарный диабет. -1999. - Т. 2, N 3. - С. 26-27.
14. Владимирюв Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 252 с.
15. Микаэлян Н.П., Князев Ю.А., Гурина А.Е. и др. Состояние цитоплазматических мембран при экспериментальном сахарном диабете // Сахарный диабет. - 1999. - Т. 3, № 4. - С. 48-51.
16. Катюхин Л.Н. Реологические свойства эритроцитов. Современные методы исследования. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 1995. - Т. 81, № 6. - С. 122-129.
17. Шилов А.М., Мельник М.В. Артериальная гипертония и реологические свойства крови. - М.: Изд-во «БАРС», 2005. - 220 с.

ДИАБЕТОМ

Адельянов О.В., Горобченко О.О., Ніколов О.Т., Гаташ С.В., Горбенко Н.І.

У роботі проведено дослідження впливу кверцетину на діелектричні параметри сироватки, плазми і суспензії еритроцитів щурів з моделлю цукрового діабету 1 типу. За допомогою метода НВЧ-діелектрометрії знайдено зменшення значення статичної діелектричної проникності (ϵ_s) сироватки і плазми крові хворих щурів у порівнянні з контролем. Встановлена відновлювана дія кверцетина на діелектричну проникність сироватки, плазми та розведеної плазми. Крім того, показано підвищення різниці між значеннями статичної діелектричної проникності сироватки і розведеної плазми у щурів з діабетом у порівнянні з контролем. Ці відхилення можуть бути обумовлені зміною у іонному та білковому складі крові хворих на діабет щурів. При терапії кверцетином ця різниця декілька зменшується. При діабеті спостерігається підвищення значень ϵ_s суспензій еритроцитів. Додавання кверцетину до дієти призводить до зменшення цього показника.

Ключові слова: НВЧ-діелектрометрія, сироватка, плазма, еритроцити, цукровий діабет 1 типу, кверцетин, фібриноген.

THE INFLUENCE OF QUERCETINE ON DIELECTRIC PARAMETERS OF BLOOD COMPONENTS IN DIABETIC RATS

Adeljanov A.V., Gorobchenko O.A., Nikolov O.T., Gatash S.V., Gorbenko N.I.

The influence of the quercetine on dielectric parameters of serum, plasma and erythrocyte suspensions in type I diabetic rats was investigated. The reduction of the value of static dielectric permittivity (ϵ_s) of blood serum and plasma in the diabetic rats in comparison with a control group was revealed by the method of microwave dielectrometry. The recovery action of the quercetine on dielectric permittivity of serum, plasma and the diluted plasma was found. Besides, the increasing of the difference between the values of serum static dielectric permeability and diluted plasma in the diabetic rats in comparison with the control grope was shown. The deviations can be caused by the changes in ionic and protein composition of the diabetic rat blood. The quercetine therapy decreases this difference slightly. The increasing in the values of ϵ_s of the erythrocyte suspensions in the diabetic rats was observed. The inclusion of the quercetine to the rat's diet leads to reduction of this parameter.

Key words: microwave dielectrometry, serum, plasma, erythrocytes, type I diabetes, quercetine, fibrinogen.
