



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117182** (13) **U**
(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 10297	(72) Винахідник(и): Олещук Олександра Михайлівна (UA), Іванків Яна Ігорівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 10.10.2016	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД "ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ", майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 26.06.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.06.2017, Бюл.№ 12	

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 2 ТИПУ

(57) Реферат:

Спосіб корекції ураження печінки при цукровому діабеті 2 типу шляхом використання антиоксидантного засобу. Також лабораторним тваринам із експериментальним діабетом призначають мелатонін з розрахунку 10 мг/кг один раз на добу о 19 годині впродовж 10 днів і про ефективність способу роблять висновок за показниками прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

UA 117182 U

Корисна модель належить до медицини, а саме експериментальної патології, і може бути використана для корекції ураження печінки, що виникає при цукровому діабеті другого типу.

Відомий спосіб корекції порушеного за умов алоксанового діабету та світлової депривації оксидантно-антиоксидантного гомеостазу [1], в якому досліджено вплив мелатоніну на оксидантно-антиоксидантний гомеостаз за допомогою визначення вмісту відновленого глутатіону, активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіонпероксидази тканини печінки, а також рівня базальної глікемії в крові щурів.

Недоліком відомого способу є те, що алоксан та продукти його розпаду, що вступають в цикл перетворень, які закінчуються утворенням супероксидних радикалів і в свою чергу, веде до утворення пероксиду водню є токсичними речовинами, а також те, що отримані результати клінічно та морфологічно відповідають діабету типу 1 і для отримання діабету типу 2 слід застосовувати іншу експериментальну модель. Надмірні дози глюкокортикоїдів можуть призводити до порушень секреторної функції панкреатичних бета-клітин та розвитку інсулінорезистентності. Дексаметазона модель діабету дозволяє відтворити основні патогенетичні механізми, а саме порушення секреції та дії інсуліну, що спостерігаються при цукровому діабеті 2 типу.

Також, при наведеному способі-аналогу не досліджувалися біохімічні зміни оксидантно-антиоксидантної рівноваги у крові щурів, активність процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та функціональна здатність печінки при цукровому діабеті.

В основу корисної моделі поставлена задача, яка спрямована на забезпечення підвищення рівня корегувального впливу на стан та функціональні властивості печінки шляхом призначення засобу корекції із антиоксидантними та гепатопротекторними властивостями.

Численні експериментальні та клінічні дані свідчать про провідну роль печінки в розвитку метаболічних ускладнень у хворих на цукровий діабет (ЦД), а зміна її функціонального стану безпосередньо впливає на перебіг та компенсацію діабету [2].

Мелатонін (МТ) гормон шишкоподібної залози, його фізіологічна, а тому і фармакологічна дія здійснюється як на системному, так і на тканинному, клітинному й субклітинному рівнях [3]. Порушення ритму секреції та кількісного складу МТ призводить спочатку до виникнення десинхронозу, а далі до розвитку органічної патології [4].

Для того, щоб зрозуміти природу специфічної дії МТ необхідним є чітке розуміння структур, за рахунок яких він діє. Мішенню МТ в тканинах являються спеціалізовані рецептори, які розрізняють за функцією (збудливі або гальмівні), а також за локалізацією в нейроні (мембранні або ядерні). Тобто ефекти мелатоніну реалізуються через специфічні мембранні (MT1 (MTNR1A) і MT2 (MTNR1B)) та ядерні (RZR α , ROR α , ROR α 2 і RZ β) рецептори, які присутні в багатьох внутрішніх органах, в тому числі і в печінці [5].

Гепатопротекторна дія МТ, полягає в його здатності нейтралізувати перекисне окиснення ліпідів та підвищувати активність антиоксидантних ферментів печінки [6].

Спосіб здійснюють наступним чином. Лабораторній тварині - білому щуру моделюють цукровий діабет 2 типу шляхом підшкірного введення розчину дексаметазону (фірма "KRKA", Словенія) в дозі 0,125 мг/кг протягом 13 діб [7]. Починаючи з 14 доби від початку експерименту вводять МТ у 0,85 % розчині NaCl, що містив 8 % етанолу, протягом 10 днів, інтрапарентерально з розрахунку дози 10 мг/кг один раз на добу. Результат детоксикації оцінюють за показниками ліпопероксидації - гідроперексидів ліпідів (ГПЛ), ТБК - активних продуктів (ТБП), антиоксидантного захисту - активності супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ), вмісту відновленого глутатіону (GSH), церулоплазміну (ЦП), показниками активності печінкових ферментів, а саме аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), визначали концентрацію жовчних пігментів, а саме холестерину, загального білірубину, а також активність гаммаглутамілтранспептидази (ГГТП), рівень базальної глікемії.

Приклади здійснення корисної моделі.

Приклад 1.

Моделюють ЦД 2 типу у статевозрілих самців - щурів шляхом підшкірного введення розчину дексаметазону в дозі 0,125 мг/кг протягом 13 діб, а контрольна група отримує відповідний об'єм ізотонічного розчину. Декапітацію тварин проводять під тіопенталовим наркозом через 24 год. після останнього введення засобу.

Формування експериментального діабету за повторного введення дексаметазону підтверджували зростанням рівня глікемії в піддослідних тварин на 74,5 % порівняно з показниками контрольної групи. Зросла активність маркерних ферментів стану мембран гепатоцитів АлАТ та АсАТ на 52,1 % та 40,9 % відповідно, що в першу чергу вказує на їхнє пошкодження та розвиток печінково-клітинної недостатності. Нами було встановлено також

підвищення концентрації жовчних пігментів у крові, а саме холестерину на 60,9 % і загального білірубину на 58,8 %, а також значне зростання активності ГГТП у 2,7 разів, дані свідчать про порушення функціональної здатності печінки щодо екскреції компонентів жовчі та ймовірний розвиток холестатичного синдрому.

Результати наших досліджень показали, що у тварин із експериментальним діабетом вміст ТБП у печінці та в сироватці крові підвищився на 17,7 % і 40,1 % відповідно порівняно з аналогічними показниками у групі контрольних тварин. Було встановлено достовірне зростання концентрації ГПЛ на 28,7 % у печінці.

Все це свідчить про активацію при моделюванні досліджуваної патології процесів ліпопероксидації. Останнє, на нашу думку, зумовило компенсаторне підвищення активності у печінці та крові тварин СОД (на 39,4 % та 29,4 % відповідно), у крові КАТ (на 44,5 %), а у печінці каталазна активність знизилась на 20,3 %. Разом з тим, пул GSH виснажувався як у печінці, так у крові, про що свідчить зниження його вмісту (на 31,3 % та 5,9 % відповідно) порівняно з контрольними показниками. Концентрація мідьвмісного антиоксидантного білка, який здатен прямо нейтралізувати як вільні радикали, каталізувати окиснення заліза, приймати участь у імунних реакціях та стабілізувати мембрани клітин [8] була вищою (на 18,3 %) у тварин із ЦД. Таким чином, ми можемо стверджувати про виникнення дисбалансу ферментної та неферментної ланок антиоксидантного захисту в умовах змодельованої патології.

Приклад 2.

За запропонованим способом тваринам із змодельованим дексаметазоновим діабетом з 14 доби від початку експерименту ввели розчин МТ протягом 10 днів, інтрапарентерально із розрахунком дози 10 мг/кг маси тіла. Декапітацію тварин провели під тіопенталовим наркозом через 24 год. після останнього введення корегуючого засобу.

Про досягнення необхідного рівня ефективності запропонованого способу робили висновок за результатами біохімічного аналізу (табл. 1, 2).

До першої групи увійшли контрольні тварини, до 2 - тварини із експериментальним діабетом, 3-тю групу склали тварини із ЦД, в яких корегували ураження печінки за запропонованим способом.

Згідно з результатами представленими в таблиці 1, у відповідь на десятиденне введення мелатоніну вміст ТБП у печінці та в сироватці крові, порівняно з групою тварин зі змодельованим ЦД знизився на 12,5 % та 19,4 % відповідно, вміст ГПЛ у печінці на 12,7 %, тобто активність процесів ліпопероксидації за введення досліджуваного коригуючого чинника зменшувалася. Вміст GSH в досліджуваних середовищах підвищився на 26,3 % та 11,6 %. Каталазна активність печінки за введення мелатоніну зросла на 17,27 %, а у крові активність цього ферменту вірогідно знизилась на 7,2 %.

Активність іншого антиоксидантного ферменту СОД зменшилася як у крові (на 21,9 %), так і у печінці (на 26,8 %), порівняно із нелікованими тваринами. Відмічено достовірне зниження (на 10,4 %) в сироватці крові концентрації церулоплазміну.

Таблиця 1

Зміни показників інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантної системи при цукровому діабеті та за введення мелатоніну ($M \pm m$, $n=7$)

Показник	Група тварин		
	1 (контроль)	2 (ЦД)	3 ЦД+М
ГПЛ (печінка), ум.од./кг	4,21±0,04	5,42±0,01 $p < 0,05$	4,73±0,08 $p_1 < 0,05$
ТБП (печінка), мкмоль/кг	4,63±0,21	5,44±0,24 $p < 0,05$	4,76±0,09 $p_1 < 0,05$
ТБП (кров), мкмоль/л	3,36±0,16	4,70±0,23 $p < 0,001$	3,79±0,25 $p_1 < 0,05$
Каталаза (печінка), кат/кг	4,35±0,12	3,47±0,18 $p < 0,01$	4,06±0,14 $p_1 < 0,05$
Каталаза (кров), кат/л	13,57±0,68	19,61±0,49 $p > 0,001$	18,21±0,29 $p_1 < 0,05$
СОД (печінка), ум.од./кг	4,25±0,19	5,92±0,43 $p < 0,05$	4,33±0,45 $p_1 < 0,05$
СОД (кров), ум.од./л	4,75±0,16	6,14±0,27 $p < 0,01$	4,79±0,45 $p_1 < 0,05$

Таблиця 1

Зміни показників інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантної системи при цукровому діабеті та за введення мелатоніну ($M \pm m$, $n=7$)

Показник	Група тварин		
	1 (контроль)	2 (ЦД)	3 ЦД+М
GSH (печінка), ммоль/кг	4,15±0,07	2,85±0,07 $p < 0,05$	3,59±0,12 $p_1 < 0,01$
GSH (кров), ммоль/л	71,13±0,80	66,90±1,01 $p < 0,01$	74,67±1,34 $p_1 < 0,01$
Церулоплазмін (кров), мг/л	225,57±13,74	266,93±10,85 $p < 0,05$	239,23±4,54 $p_1 < 0,05$

Примітка. У цій та наступній таблиці достовірність відносно: p - контролю, p_1 - діабету.

Введення мелатоніну сприяло достовірному зниженню глікемії у тварин із експериментальним діабетом на 17,9 %. На досягнення позитивного антитоксичного ефекту від застосування мелатоніну вказують наведені в таблиці 2 дані про зміни активності маркерних ферментів цитолізу та холестазу. Усі інформативні значущі показники, а саме АЛАТ та АсАТ були нижчі на 21,2 % та 13,9 %, концентрація загального білірубіну та холестерину на 20,8 % та 28,9 %, ЛФ та ГГТП на 12,1 % та 42,1 % відповідно порівняно із аналогічними показниками 2 групи тварин.

Таблиця 2

Зміни окремих біохімічних показників у крові щурів при цукровому діабеті та за введення мелатоніну ($M \pm m$, $n=7$).

Показник	Група тварин		
	1 (контроль)	2 (ЦД)	3 ЦД+М
Глюкоза, ммоль/л	6,39±0,27	11,16±0,41 $p < 0,05$	9,16±0,45 $p_1 < 0,01$
АЛАТ, Од/л	127,87±8,46	194,47±6,29 $p < 0,001$	153,29±4,53 $p_1 < 0,001$
АсАТ, Од/л	153,29±6,42	216,07±7,59 $p < 0,001$	186,10±4,92 $p_1 < 0,01$
ЛФ, Од/л	243,80±9,50	315,13±8,80 $p < 0,001$	276,91±3,85 $p_1 < 0,01$
Холестерин, ммоль/л	1,39±0,09	2,25±0,20 $p < 0,01$	1,59±0,05 $p_1 < 0,05$
Білірубін, мкмоль/л	3,31±0,13	5,26±0,29 $p < 0,001$	4,17±0,28 $p_1 < 0,05$
ГГТП, Од/л	2,34±0,16	6,39±0,30 $p < 0,001$	3,70±0,33 $p_1 < 0,001$

Таким чином, запропонований спосіб корекції ураження печінки, шляхом використання мелатоніну забезпечує високу профілактично-лікувальну активність і може знайти застосування при розробленні високоефективних способів корекції функції печінки при цукровому діабеті 2 типу.

Джерела інформації, які слід взяти до уваги:

1. Пат. Україна № 94758 (U20014 07342). МПК А61В 5/00. Спосіб корекції порушеного за умов алоксанового діабету та світлової деривації оксидантно-антиоксидантного гомеостазу / Геруш І. В., Яремій І. М., Кушнір О.Ю., заявл. 01.07.2014; опубл. 25.11.2014, Бюл. № 22, 2014 р.

2. Бабак О.Я. Заболевания печени у пациентов с сахарным диабетом: современная тактика и стратегия терапии / О.Я. Бабак // Здоров'я України. - 2009. - № 6(1). - С. 14-15.

3. Melatonin suppresses macrophage cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting p52 acetylation and binding / W.-G. Deng, S.-T. Tang, H. - P. Tseng, K. K. Wu // Blood.-2006. - Vol. 108. - P. 518-524.

4. Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions / J. Reiter, Tan Dunxian, M. Pilar Terron [et al.] // Acta biochimica polonica.-2007. - Vol. 54, N 1. - P. 1-9.

5. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions / R. M. Slominski, R. J. Reiter, N. Schlabritz-Loutsevitch [et al.] // MolCellEndocrinol.-2012. - № 351 (2). - P. 152-166.

6. Schmidt R. Hepatoprotective actions of melatonin: Possible mediation by melatonin receptors / R. Schmidt // World J Gastroenterol-2010. - № 16 (48). - P. 6087-6097.

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авиценна, 2001.-568 с.
8. Ващенко В.И. Церулоплазмин - от метаболита до лекарственного средства / В.И. Ващенко, Т.Н. Ващенко // Психофармакология и биологическая наркология -2006. - Т. 6, № 3. - С. 1254-1269.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 Спосіб корекції ураження печінки при цукровому діабеті 2 типу, шляхом використання антиоксидантного засобу, який **відрізняється** тим, що лабораторним тваринам із експериментальним діабетом, призначають мелатонін з розрахунку 10 мг/кг один раз на добу о 19 годині впродовж 10 днів і про ефективність способу роблять висновок за показниками прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601