

Клінічні дослідження

УДК 616.379-008.64: 616.8]-085.22

І.І. Білоус

ВПЛИВ МІЛДРОНАТУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ НА АКТИВНІСТЬ У ПЛАЗМІ КРОВІ КАТАЛАЗИ ТА ЦЕРУЛОПЛАЗМІНУ В КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ДІАБЕТИЧНОЇ ПОЛІНЕЙРОПАТІЇ

Кафедра нервових хвороб, психіатрії та медичної психології (зав. – проф. В.М. Пашковський)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Вивчено вплив мілдронату та тіотриазоліну на активність у плазмі крові каталази та церулоплазміну в комплексному лікуванні діабетичної полінейропатії. Найбільший позитивний вплив виявлено при одночасному застосуванні мілдронату та тіотриазоліну порівняно з базисним лікуванням.

Ключові слова: діабетична полінейропатія, цукровий діабет, каталаза, церулоплазмін, плазма крові, лікування.

Вступ. Цукровий діабет (ЦД) є однією з основних медико-соціальних проблем сучасного суспільства, передусім за рахунок значної розповсюдженості захворювання, частого розвитку ускладнень, які призводять до збільшення інвалідизації, зменшення тривалості життя. В Україні зареєстровано близько 1 млн. хворих на ЦД, причому вважається, що приблизно така ж кількість осіб має не діагностований ЦД, тобто реальна кількість хворих складає близько 2-2,5 млн. чоловік [1,2]. Одним із раних та найпоширеніших ускладнень ЦД є діабетична полінейропатія (ДПН). У розвитку ДПН провідну роль відіграє гіперглікемія, однак досягнення стабільної нормоглікемії не в повній мірі запобігає прогресуванню ускладнень ЦД. Останніми роками зросло розуміння важливої ролі активації процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та біополімерів у порушенні структурно-функціональних властивостей біомембран і розвитку патологічних процесів в організмі. Дослідження, проведені останнім часом, показали, що зміни інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) супроводжують захворювання різноманітного генезу, зокрема ДПН. Одним із механізмів пригнічення процесів ПОЛ є наявність у тканинах антиоксидантної системи (АОС), що включає відновлений глутатіон та ферменти його обміну, вітаміни А, С, Е, Р, сечову кислоту та інші низькомолекулярні сполуки, які запобігають або затримують проходження ланцюгових реакцій переокиснення, білки – церулоплазмін і трансферин, а також ферменти знешкодження активних форм кисню – супероксиддисмутази, каталази, пероксидази. Порушення АОС і її контролю за процесами ПОЛ може стати важливим фактором розвитку пероксидації. Тому комплексне дослідження стану антиоксидантної системи і вмісту продуктів ПОЛ в органах і тканинах має важливе значення при вивченні механізмів розвитку патологічних процесів [3,4]. Це дає змогу виявити ті ланки в патогенезі захворювань, діючи на які можна запобігти чи, хоча б, сповільнити розвиток патологічного процесу в організмі. Доцільним є вивчення механізму дії препаратів з антиоксидантними властивостями, а саме мілдронату (МД) – 3-(2,2,2-триметилгідразиній) пропіонату – структурного аналога природного метаболіту γ -бутиробетайну [5] та вітчизняного препарату тіотриазоліну (ТТЗ) на перебіг діабетичної полінейропатії. Встановлено, що основний фармакологічний ефект ТТЗ обумовлений протипіщемічною, антиоксидантною та мембраностабілізуючими властивостями [6].

Мета дослідження. Обґрунтувати використання МД та ТТЗ у комплексному лікуванні хворих на ДПН на основі вивчення активності каталази та церулоплазміну.

Матеріал і методи. Обстежено 90 хворих на ЦД II типу, які перебували на стаціонарному лікуванні в Чернівецькому обласному клінічному ендокринологічному диспансері, зокрема 38 жінок та 52 чоловіки віком від 35 до 65 років. ЦД середнього ступеня тяжкості спостерігався у 86 хворих, тяжкий – у 4 пацієнтів, у т. ч. компенсований – у 14 хворих, субкомпенсований – у 76 осіб. Пацієнти були розподілені на 3 групи: I гр. – хворі на ЦД

терміном до 1 року (30 осіб); II гр.– хворі на ЦД терміном до 10 років (32 особи); III гр.– хворі на ЦД терміном понад 10 років (28 осіб).

Додатково хворі були розподілені на чотири підгрупи: I підгрупа – 22 пацієнти, які отримували базисну терапію (дієта №9, манініл – по 5мг двічі на добу або інсулінотерапія – 2/3 добової дози вранці та 1/3 добової дози ввечері з розрахунку 0,7 – 1,0 Од на кілограм маси, пентоксифілін – по 5мл внутрішньовенно крапельно на 250мл ізотонічного розчину хлориду натрію, вітаміни B₆, B₁₂); II підгрупа – 23 хворих, які на фоні базисного лікування отримували МД (5 мл – 10%-ного розчину внутрішньовенно 1 раз на добу впродовж двох тижнів); III підгрупа – 22 хворих, які на фоні базисного лікування отримували ТТЗ (2 мл 2,5%-ного розчину внутрішньом'язово 1 раз на добу впродовж двох тижнів); IV підгрупа – 23 пацієнти, які на фоні базисного лікування отримували МД (5 мл 10%-ного розчину внутрішньовенно 1 раз на добу) та ТТЗ (2 мл 2,5%-ного розчину внутрішньом'язово 1 раз на добу впродовж двох тижнів). Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб.

Біохімічні дослідження проводили у плазмі крові хворих і донорів, забір якої здійснювали вранці натще. Біохімічні показники у хворих визначали до лікування (на 1-2-гу доби госпіталізації) і після проведеного лікування (на 14-ту добу).

Принцип методу визначення церулоплазміну (ЦП) [КФ 1.16.3.1] ґрунтується на окисненні п-феніледіаміну за участі ЦП. Ферментативну реакцію зупиняли додаванням фтористого натрію. За величиною оптичної густини утворених продуктів судили про концентрацію ЦП [7].

У плазмі крові визначали активність каталази [8]. Принцип методу визначення активності каталази базується на здатності пероксиду водню утворювати із солями молібдену амонію стійкий забарвлений комплекс.

Одержані дані опрацьовані методами математичної статистики з визначенням середньої арифметичної величини (M), середньої похибки середньої арифметичної величини (m), а також критерію Стюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Доведено [9], що основним антиоксидантом як у нормі, так і за патології є ЦП – багатофункціональний мідь-вміщуючий білок сироватки крові (α_2 -глобулінової фракції) з молекулярною масою 132 кДа, який запобігає та інгібує ПОЛ. Разом із трансферином він утворює прооксидантно-антиоксидантну буферну систему крові, яка бере участь у підтримці окисного гомеостазу. У цій системі ЦП відіграє роль антиоксиданта, а трансферин виконує прооксидантну функцію. За фізіологічних умов ЦП крові інгібує ПОЛ на 50%, він є головним антиоксидантом крові. Вважається, що антиоксидантний ефект ЦП залежить від його пероксидазної активності. Можна припустити, що ЦП відіграє роль у знешкодженні токсичного вільного радикала супероксиданіону – продукту аеробного метаболізму, попередника інших активних форм кисню.

Особливістю ЦП є висока стабільність до токсичної дії активних форм кисню. Це дозволяє йому зберігати високу активність за умов інтенсивної генерації активних форм кисню. ЦП виявляє як специфічну, так і неспецифічну антиоксидантну активність. У роботі [9] показано, що ЦП є “перехоплювачем” вільних радикалів, що циркулюють у крові.

Показники активності ЦП у плазмі крові хворих на ДПН наведені в табл. 1.

Так, у хворих на ДПН відмічалася збільшення активності ЦП на 44,9% в I групі, на 86,0% – в II групі та більше, ніж у 2 рази – в III групі порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). Зростання активності ЦП можна пояснити як компенсаторну реакцію на збільшення вмісту вільних радикалів кисню в сироватці крові. У 9 хворих, в яких тривалість ЦД більше 10 років, відмічали зниження активності ЦП порівняно з контрольною групою. На наш погляд, це пояснюється розвитком діабетичної гепатопатії та нефропатії, що, у свою чергу, призводить до зменшення ЦП-синтезувальної функції печінки, з одного боку, та збільшенням виділення ЦП внаслідок порушення функції нирок – з іншого, до виснаження захисних антиоксидантних систем.

Після базисного лікування відмічали тенденцію до зниження активності ЦП в усіх трьох групах ($p > 0,05$). У пацієнтів, яким призначався МД, відмічали вірогідне зниження активності ЦП на 17,1% в I групі, на 22,2% – в II групі та на 26,3% – в III групі. У хворих, які на фоні базисного лікування приймали ТТЗ, активність ЦП знизилась на 25,2% в I групі, на 37,9% – в II групі та на 39,5% – в III групі. У пацієнтів, яким призначався одночасно МД та ТТЗ, відмічали зниження активності ЦП на 27,2% в I групі, на 41,5% – в II групі та на 41,8% – в III групі.

Нами визначена в плазмі крові хворих на ДПН активність каталази. Каталаза – це гемвмісний фермент, локалізований переважно в пероксисомах клітин. Велика молекулярна маса ферменту перешкоджає його проникненню через клітинну мембрану. Функцією каталази є запобігання накопичення пероксиду водню, який утворюється при дисмутації супероксидного аніона та в інших реакціях. Каталаза

Таблиця 1

Активність церулоплазміну в плазмі крові хворих на діабетичну полінейропатію залежно від тривалості цукрового діабету (мг/л) ($M \pm m$)

Групи хворих	До лікування	Базисне лікування	Після призначення МД	Після призначення ТТЗ	Після призначення МД та ТТЗ
Контрольна група	169,8 ± 8,2				
I	246 ± 7,1 ($p < 0,01$)	233 ± 9,3 ($p_1 > 0,05$)	204 ± 6,2 ($p_1 < 0,01$) ($p_2 < 0,05$)	184 ± 8,7 ($p_1 < 0,01$) ($p_2 < 0,01$)	179 ± 9,5 ($p_1 < 0,01$) ($p_2 < 0,01$)
II	316 ± 8,5 ($p < 0,01$)	306 ± 7,8 ($p_1 > 0,05$)	246 ± 8,9 ($p_1 < 0,01$) ($p_2 < 0,01$)	196 ± 9,8 ($p_1 < 0,01$) ($p_2 < 0,01$)	185 ± 8,7 ($p_1 < 0,01$) ($p_2 < 0,01$)
III	354 ± 7,4 ($p < 0,01$)	336 ± 9,3 ($p_1 > 0,05$)	261 ± 9,3 ($p_1 < 0,01$) ($p_2 < 0,01$)	214 ± 7,6 ($p_1 < 0,01$) ($p_2 < 0,01$)	206 ± 9,2 ($p_1 < 0,01$) ($p_2 < 0,01$)

Примітка. p – вірогідність порівняно з контрольною групою; p_1 – вірогідність порівняно з хворими до лікування; p_2 – вірогідність порівняно з хворими після базисного лікування.

Таблиця 2

Активність каталази плазми крові хворих на діабетичну полінейропатію до та після проведеного лікування (мккат/г білка) ($M \pm m$)

Групи хворих	До лікування	Базисне лікування	Базисне лікування + МД	Базисне лікування + ТТЗ	Базисне лікування + МД та ТТЗ
Контрольна група	5,3 ± 0,3				
I (до 1 року)	4,4 ± 0,2 ($p < 0,05$)	4,8 ± 0,3 ($p_1 > 0,05$)	5,1 ± 0,5 ($p_1 > 0,05$) ($p_2 > 0,05$)	5,2 ± 0,4 ($p_1 > 0,05$) ($p_2 > 0,05$)	5,3 ± 0,3 ($p_1 < 0,05$) ($p_2 > 0,05$)
II (до 10 років)	3,6 ± 0,2 ($p < 0,01$)	3,8 ± 0,2 ($p_1 > 0,05$)	4,2 ± 0,4 ($p_1 > 0,05$) ($p_2 > 0,05$)	4,3 ± 0,2 ($p_1 < 0,05$) ($p_2 > 0,05$)	4,8 ± 0,3 ($p_1 < 0,05$) ($p_2 < 0,05$)
III (понад 10 років)	1,8 ± 0,5 ($p < 0,01$)	2,5 ± 0,2 ($p_1 < 0,05$)	3,2 ± 0,2 ($p_1 < 0,05$) ($p_2 < 0,05$)	3,5 ± 0,3 ($p_1 < 0,05$) ($p_2 < 0,05$)	3,6 ± 0,4 ($p_1 < 0,05$) ($p_2 < 0,05$)

Примітка. p – вірогідність порівняно з контрольною групою; p_1 – вірогідність порівняно з хворими до лікування; p_2 – вірогідність порівняно з хворими після базисного лікування.

відноситься до ферментів, які найдовше зберігають свою високу активність, майже не потребують енергії активації, швидкість реакції цього ферменту лімітує лише швидкість дифузії субстрату до активного її центра [8].

Показники активності каталази плазми крові у хворих на ДПН наведені в табл. 2.

У хворих на ДПН відмічали незначне зниження активності каталази в I групі на 16,9%, а в 16 осіб з тривалістю захворювання до 1 року активність каталази вірогідно не відрізнялася від показника в контрольній групі, в II групі активність ферменту була знижена на 32,1% та на 66,0% – в III групі порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). Отримані дані свідчать про пригнічення захисних антиоксидантних систем у хворих на ДПН, найбільше виражене при тривалості ЦД понад 10 років. Після базисного лікування відмічали тенденцію до збільшення активності каталази в усіх трьох групах ($p > 0,05$). У пацієнтів, яким призначався МД, відмічали тенденцію до підвищення активності каталази на 15,9% в I групі, на 16,7% – в II групі та вірогідне зростання активності каталази на 77,8% – в III групі. У хворих,

які на фоні базисного лікування приймали ТТЗ, активність каталази незначно зросла на 18,2% у хворих I групи, вірогідне підвищення активності ферменту на 19,4% спостерігали в II групі та на 94,4% – в III групі. У пацієнтів, які на фоні базисного лікування приймали МД та ТТЗ, активність каталази вірогідно зросла на 20,5% в I групі та досягла нормального значення, на 33,3% – в II групі та в 2 рази – в III групі. Тобто, в осіб із тривалістю ЦД до 1 року відмічається тенденція до зниження активності каталази, що свідчить про незначне зниження потужності антиоксидантної системи організму. У міру збільшення тривалості захворювання відмічається проградієнтне зниження активності каталази, причому найбільше зниження відмічається у хворих III групи, в яких тривалість ЦД понад 10 років, що можна пояснити виснаженням захисних антиоксидантних систем. Найбільше зростання потужності каталази після проведеного лікування спостерігали в III групі, в якій були найнижчі вихідні значення. Цікавим є той факт, що на фоні введення ТТЗ та МД у хворих на ДПН зросла активність антиоксидантного ферменту, а саме каталази, причому призначення ТТЗ виявилось більш ефективним, ніж призначення МД, тобто антиоксидантна активність ТТЗ виявилась вищою за МД. Однак найкращий результат спостерігався при одночасному призначенні ТТЗ та МД. Таке явище можна пояснити вираженою антиоксидантною активністю ТТЗ, що призводить до стимуляції синтезу клітинами організму антиоксидантних ферментів з їх подальшим звільненням у кров. Таким же чином проходить і активація каталази [7]. Антиоксидантний ефект МД реалізується шляхом переходу окиснення жирних кислот на шлях, який веде до зниження вмісту продуктів пероксидного окиснення і зменшення пошкодження клітинних мембран [6].

Проведене дослідження вказує на доцільність використання МД та ТТЗ у комплексі з вітамінами групи В, засобами, які нормалізують глікемічні порушення, препаратами для покращення мікроциркуляції, що дозволить збільшити якість лікувальних та профілактичних заходів.

Висновки. 1. У хворих на діабетичну полінейропатію відмічається вірогідне зростання в плазмі крові активності церулоплазміну як прояв захисної реакції та зниження активності каталази.

2. Під впливом базисного лікування активність церулоплазміну та каталази не зазнавали вірогідних змін. Після додаткового призначення мілдронату або тіотриазоліну відмічалось вірогідне збільшення активності церулоплазміну та каталази, причому призначення ТТЗ виявилось більш ефективним, ніж призначення МД. Найкращий результат спостерігався при одночасному призначенні мілдронату та тіотриазоліну за тривалості цукрового діабету понад 10 років.

Привертає увагу необхідність подальшого вивчення впливу МД та ТТЗ на показники окиснювальної модифікації білків плазми крові для лікування та профілактики діабетичних полінейропатій.

Література. 1. Боднар І. Н., Приступок А. М. Влияние компенсации сахарного диабета на процессы перекисного окисления липидов // *Клин. мед.* – 1984. – Т. 62, №8. – С. 98–101. 2. Трюшко П. Д., Ефимов А. С., Ткач С. П. Пероральные сахароснижающие препараты и тактика их применения. – Киев, 2002. – 102 с. 3. Балаболкин М. И., Креминская В. М. Диабетическая невропатия // *Ж. неврол. и психиатрии.* – 2000. – Т. 10, №3. – С. 57–64. 4. Бобырева Л. Е. Антиоксиданты в комплексной терапии диабетических ангиопатий // *Эксперим. и клин. фармакол.* – 1998. – Т. 61, №1. – С. 74–80. 5. Волков В. И., Запровальная О. Е., Ченчик Т. А. Применение милдроната при ишемической болезни сердца // *Вісн. фармації.* – 2001. – Т. 27, №3. – С. 129. 6. Васильєва Н. В., Мецишен І. Ф., Мудрик З. А. Мембраностабілізуюча та антиоксидантна дія тіотриазоліну // *Укр. наук – мед. молодіжний ж.* – 1998. – №2-3. – С. 38–41. 7. Келб В. Г., Камьшиников В. С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 290 с. 8. Короток М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело.* – 1998. – №1. – С. 16–19. 9. Сапина О. Л., Бердинских Н. К. Биологическая роль церулоплазмينا и возможности его клинического применения (обзор литературы) // *Вопр. мед. клиники.* – 1986. – Т. 32, №5. – С. 7–14.

THE INFLUENCE OF MILDRONAT AND TIOTRIAZOLIN ON THE ACTIVITY OF CATALASE AND CERULOPLASMIN IN BLOOD PLASMA IN MULTIMODALITY TREATMENT OF DIABETIC POLYNEUROPATHY

I. I. Bilous

Abstract. The influence of mildronat and tiotriazolin on the activity of catalase and ceruloplasmin in blood plasma has been studied in a course of multimodality treatment of this pathology. The most positive influence has been detected in case of a simultaneous use of mildronat and tiotriazolin in comparison with the basic treatment.

Key words: diabetic polyneuropathy, diabetes, catalase, ceruloplasmin, blood plasma.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2003. – Vol. 7, №4. – P. 39–42.

Надійшла до редакції 28.01.2003 року