Biol. Stud. 2011: 5(2); 61–72 • DOI: https://doi.org/10.30970/sbi.0502.156
www.http://publications.lnu.edu.ua/journals/index.php/biology

УДК 577:663.2:617.735-002-02:616.633.66

АНТИОКСИДАНТНИЙ ЕФЕКТ ПРИРОДНИХ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ ВИНОГРАДУ У СІТКІВЦІ ОКА ЩУРІВ ЗІ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ, ІНДУКОВАНИМ СТРЕПТОЗОТОЦИНОМ

А. Р. Гнатуш[1], В. Р. Дрель[1], А. Я. Яланецький[2], В. І. Мізін[2], В. А. Загоруйко[2], В. Г. Гержикова[2], Н. О. Сибірна[1]

[1]Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: gnatuk88@ukr.net

[2]Національний інститут винограду та вина „Магарач"
вул. Кірова, 31, Ялта 98600, АР Крим, Україна

Досліджено протекторний вплив природних поліфенольних комплексів винограду на антиоксидантну систему сітківки ока щурів за умов стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету. Показано, що запропонована кількість препарату природних поліфенольних комплексів винограду, яка споживалася, – не впливає на рівень глюкози у крові тварин, хворих на діабет, і контрольної групи. Експериментально встановлено зростання маси тіла здорових щурів і тварин, уражених цукровим діабетом, за умов споживання досліджуваного препарату. Встановлено, що поліфеноли, які входять до складу виділеного препарату, частково або повністю нормалізують роботу ферментативної антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази) у тканині сітківки ока.

Виявлено істотні відмінності кількості продуктів перекисного окислення ліпідів у щурів, які були уражені цукровим діабетом за умов споживання та без споживання препарату. Отримані результати підтверджують доцільність використання препарату поліфенольних комплексів винограду для профілактики та лікуваннія діабетичних ретинопатій.

Ключові слова: цукровий діабет, поліфенольні комплекси, діабетична ретинопатія, оксидативний стрес, антиоксидантний захист.

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) – одне з найпоширеніших неінфекційних захворювань, яке характеризується вкрай високим ризиком розвитку мікро- та макросудинних ускладнень, що призводять до інвалідності. За визначенням ВООЗ, захворюваність на ЦД має характер наростаючої пандемії та набуло таких масштабів, що

світове співтовариство прийняло ряд нормативних актів (Сент-Вінсентська декларація 1989 р., Веймарська ініціатива 1997 р., резолюція 61 Генеральної Асамблеї ООГ 2006 р.), спрямованих на боротьбу з цим важким за своєю природою захворюванням. Директор Центру діабету ВООЗ і Міжнародного інституту з дослідження діабету в Австралії П. Зіммет наголосив: *«Насувається глобальне цунамі діабету, катастрофа, яка стане кризою охорони здоров'я XXI ст., це може вперше за останні 200 років знизити тривалість життя у глобальному масштабі»* [14].

За даними ВООЗ, у 2010 р. вже понад 240 млн людей хворіють на цукровий діабет. В Україні зареєстровано понад 1 млн хворих на діабет. ЦД підвищує ризик розвитку катаракти і глаукоми, проте найбільшу загрозу для зору становить ураження сітківки ока. Незалежно від типу діабету (1-го чи 2-го), у понад 80% хворих на діабет людей (із тривалістю захворювання понад 10 років) розвиваються ті чи інші форми ретинопатій (захворювання сітківки ока), які зазвичай можуть призводити до сліпоти. Показано, що вчасне виявлення погіршення зору за умов діабету і лікування цього ускладнення запобігає сліпоті у 90% хворих з діабетичною ретинопатією [12]. Поряд із цим, ЦД є також основною причиною сліпоти у людей, вік яких сягає 40–45 років. Лазерна фотокоагуляція, ін'єкції тріамцінолону та хірургічні втручання (вітректомія) є основними методами лікування діабетичних ретинопатій [15], однак вони спрямовані на уповільнення подальших патологічних перетворень сітківки ока і не гарантують сникнення сліпоти у майбутньому. На сьогодні не існує ліків, які б запобігали розвиткові діабетичних ретинопатій і катарактогенезу на ранніх етапах їхнього розвитку та в цілому перешкоджали б їхньому формуванню [15]. Інтенсивний пошук нових препаратів, що запобігатимуть чи хоча б сповільнюватимуть розвиток як діабетичних ретинопатій, так і інших хронічних уражень за умов ЦД, є на даний час надзвичайно актуальним завданням.

Діабетична ретинопатія – це комплексне ураження сітківки та її судин, яка є наслідком діабетичної капіляропатії. Діабетичні ретинопатії розвиваються у результаті адитивної дії комплексу різноманітних патологічних процесів, які виникають і у судинах, і у нервах сітківки [3]. Найважливішими патогенетичними механізмами в розвитку ретинопатій є: зростання активності альдозоредуктази (із подальшою акумуляцією метаболічних продуктів поліольного шляху – фруктози та сорбітолу), інтенсифікація неферментативного глікозилювання, активація протеїнкінази С, оксидативно-нітрозативний стрес, які експериментально були виявлені та досліджені на ранніх і пізніх стадіях розвитку захворювання на різних діабетичних моделях [3, 6]. Первинне ураження стінки капілярів, спочатку субклінічне, а потім видиме при біомікроскопії очного дна, і є тим процесом, який призводить до патології ока.

У результаті окисно-відновних реакцій в організмі постійно відбувається генерація активних форм кисню (АФК: O_2^-, O_2^1, OH^-, RO_2 OH_2, H_2O_2 та ін.), які відіграють важливу роль у багатьох фізіологічних і біохімічних процесах: регуляції тонусу судин, клітинній проліферації, синтезі простагландинів, передачі сигналів від міжклітинних сигнальних молекул на регуляторні системи, які контролюють експресію генів тощо. ЦД характеризується дефіцитом енергетичних субстратів, що активує вільнорадикальне окиснення. Це викликає посилення цитотоксичних

властивостей АФК і є однією із причин виникнення оксидативного стресу (ОС). Так, за умов гіперглікемії, що розвивається за ЦД, відбувається порушення роботи електронтранспортного ланцюга, що, у свою чергу, викликає надпродукцію супероксид-аніона, який за нормальних умов нейтралізується антиоксидантною системою. Відомо, що вагомий внесок у формування пізніх діабетичних ускладнень робить саме порушення рівноваги між продукцією вільних радикалів і активністю антиоксидантних ферментів, яка за ЦД є знижена [18]. Підсилення роботи антиоксидантної системи екзогенними антиоксидантами має протекторний ефект на всі системи організму та зменшує „площину уражень".

Останнім часом цікавими є дослідження природних антиоксидантів – поліфенольних комплексів винограду, серед яких виділяють проантоціаніди, похідні флаван-3-олів та низку інших похідних флавоноїдів, які дають ефект у запобіганні серцево-судинних захворювань [9]. Відомо, що поліфеноли винограду здатні взаємодіяти з білками плазми та клітинними елементами крові, запобігати передчасному окисненню їхніх молекулярних комплексів, яке спричинене ОС. Також показано значну бактерицидну й антивірусну дію даних речовин [2]. Виявлено протекторну дію поліфенольних комплексів винограду на деякі системи й органи за умов ОС за ЦД і при метаболічному синдромі [10, 11].

Оскільки протекторні властивості природних поліфенольних комплексів винограду за умов ЦД 1-го типу та їхній вплив на ферментативну антиоксидантну систему за умов розвитку ретинопатій досліджені мало, то метою нашої роботи було дослідити протекторний антиоксидантний ефект препарату природних поліфенольних комплексів на ферментативну ланку антиоксидантної системи винограду у сітківці ока щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Wistar масою 150–200 г. Експерименти проводились згідно із „Загальними принципами роботи на тваринах", затвердженими І Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) і погодженими з положеннями „Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, Франція, 1985).

Препарат природних поліфенольних комплексів винограду (далі препарат) отримували упарюванням червоного вина, виготовленого з винограду сорту „Каберне-Совіньон" за класичною технологією на роторному випарювачі марки LABOROTA 4000 (Heidolph, Німеччина). Вміст титрованих кислот у червоному вині – 5,47 г/дм^3; масова концентрація фенольних сполук – 2309,31 мг/дм^3; масова концентрація барвників – 443,8 мг/дм^3; масова концентрація проціанідинів – 936,0 мг/дм^3.

Модель експериментального цукрового діабету (ЕЦД) створювали щурам доочеревинним введенням стрептозотоцину (50 мг/кг) у цитратному буфері (pH 5,5). Хворими на діабет вважали тварин, у яких рівень глюкози у крові був ≥13,8 ммоль/л.

Щурі були розділені на 4 групи: 1) контроль (К), 2) контроль + препарат (К+П), 3) діабет (Д), 4) діабет + препарат (Д+П). Щурі споживали препарат поліфенолів розведеним у питній воді в дозі, що відповідає 23,5 мг/кг маси тіла/день, відповідно

до пропорції 300 мл вина/70 кг маси тіла/день (з моніторингом і корекцією об'єму кожної доби), протягом двох тижнів перед і протягом місяця після індукції діабету.

По закінченню експерименту забій щурів здійснювали декапітацією. Виділені тканини негайно заморожували в рідкому азоті для подальших експериментів.

Гомогенізацію тканин проводили за допомогою ручного гомогенізатора у присутності 0,1 М фосфатного буфера (pH 7,0) з розрахунку 1:10 (вага/об'єм). Гомогенізовані зразки відцентрифуговували протягом 15 хв при 10620 g за температури +4°С.

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за Чеварі [22], каталази – за Королюком, [17], глутатіонпероксидази (ГПО) – за Моїним [19], глутатіонредуктази (ГР) – за Голдбергом [4]. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів, що реагували з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-позитивних продуктів ПОЛ), визначали за Тимурбулатовим [21]. Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [8].

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів параметричної та непараметричної варіаційної статистики. У випадку множинних співвідношень груп використовували критерії Стьюдента-Ньюмана-Кейля та багатофакторного дисперсійного аналізу ANOVA (F-значення). Дані представляли у вигляді $M \pm m$ для кожної експериментальної групи. Достовірно відмінними вважали результати при показах вірогідності $p \geq 0,95$ (рівень значимості $P<0,05$). При статистичній обробці експериментальних даних використовували програми Origin 7.0, Excel-2003.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

По закінченню експерименту кінцева маса контрольних щурів і щурів, які споживали препарат природних поліфенольних комплексів винограду, зросла на 36% порівняно з початком експерименту (табл. 1). На відміну від контролю, маса тіла у групах щурів, хворих на діабет, незначно зменшилась. У той же час маса тіла хворих на діабет щурів, які споживали препарат, збільшилася на 36%.

У групах щурів, хворих на діабет, це можна пояснити тим, що діабет характеризується „надпродукцією" сечовини. Остання, завдяки осмотичному діурезу, виводиться з організму разом із необхідною для цього кількістю води й електролітичних іонів K^+ та Na^+ [5]. Даний процес призводить до дегідратації організму, який посилюється в подальшому, у результаті індукції вивільнення вільних жирних кислот із адипоцитів і подальшого перетворення у кетонові тіла (ацетоацетат і β-гідроксибутират), що викликає кетоацидоз [15]. Кетонові тіла провокують посилення осмотичного діурезу і втрату електролітів [7], що замикає описану схему. Такі тотальні зміни рівня води в організмі не можуть не впливати на загальний метаболізм. Це все і пояснює значну різницю мас у діабетичній групі порівняно з контролем.

У групі щурів, хворих на діабет, які споживали препарат, показники маси тіла практично відновилися до значень контролю. Це підтверджує наші попередні дослідження, що поліфеноли запобігають явищу дегідратації [15]. Аналізуючи отримані результати, можна припустити, що протекторний ефект на організм досягається механізмами, незалежними від рівня глюкози у крові. Можливо, це відбувається шляхом зниження рівня кетонових тіл на етапі їхньої утилізації або шляхом виведення їх з організму системою клубочків і канальців нирок, що супроводжується

стимуляцією реабсорбції електролітів і води із первинної сечі [15]. Встановлення механізмів цих явищ потребує детального дослідження у майбутньому.

Також підтвердилися результати попередніх досліджень [15], що поліфенольні комплекси винограду не мають коригуючого впливу на рівень глюкози як у контрольних так і у діабетичних групах, адже концентрація глюкози у крові хворих тварин зростала протягом усього експерименту (табл. 1).

Таблиця 1. **Маса тіла та концентрація глюкози у крові контрольних і хворих на діабет щурів, які споживали препарат поліфенолів (M ± m. n = 5–7)**

Table 1. **Body weight and blood glucose concentration in control and diabetic rats with or without polyphenol consumption (M ± m. n = 5–7)**

Група щурів	Глюкоза крові, ммоль/л		Маса тіла, г	
	Початкова §	Кінцева	Початкова §	Кінцева
К	5,72 ± 0,46	6,2 ± 0,51	214 ± 16,1	292 ± 19,6
К+П	5,92 ± 0,16	6,3 ± 0,19	209 ± 17,35	278 ± 20
Д	18,54 ± 0,89 **	26,82 ± 2,23 **	181 ± 6,78	199 ± 30**
Д+П	20 ± 0,29 **	26,88 ± 1,87**	188,3 ± 6,41	257,5 ± 10,47*, #

Примітка: К – контрольна група; К+П – контрольна група, що вживала препарат поліфенолів; Д – діабетична група; Д+П – діабетична група, що вживала препарат поліфенолів.

*, ** P<0,05 та<0,01, відповідно, проти контрольної групи. # P<0,05 проти групи щурів, хворих на діабет, без споживання поліфенольних комплексів винограду. § – 3-тя доба після індукції діабету.

Note: К – control; К+П – control + polyphenols; Д – diabetic; Д+П – diabetic + polyphenols.

*, ** P<0,05 та<0,01 against the control group. # P<0,05 against the control and diabetic group without polyphenol speciment consumption. § – 3rd day after induction of diabetes.

Відомо, що за умов ЦД ретинопатії на ранніх стадіях характеризуються частковим збільшенням проникності судин сітківки, втратою перицитів судин, з подальшим потовщенням стінок останніх, їхньою дегенерацією, порушенням кровообігу в оці та розвитком гіпоксії [15]. Зменшення перфузії капілярів і гіпоксія, у свою чергу, призводять до неоваскуляризації, надмірного розвитку аномального ендотелію і накопичення колагену. Ангіогенез супроводжується модифікацією ендотелію, деградацією базальної мембрани. Усе це в кінцевому результаті призводить до мікроінфарктів і відшаровування сітківки [1, 15]. В основі описаного механізму лежать процеси інтенсифікації утворення активних форм кисню, що за нормальних умов нейтралізуються антиоксидантною системою, робота якої за даної патології порушується.

Інтенсивність вільнорадикального окиснення в організмі залежить від багатьох чинників, але, в першу чергу, детермінується злагодженим функціонуванням ензимів системи антиоксидантного захисту (АОЗ), серед яких визначальна роль належить супероксиддисмутазі (СОД), каталазі (КТ), глутатіонпероксидазі (ГПО) та глутатіонредуктазі (ГР).

Дослідження активності ферментів антиоксидантої системи засвідчило, що їхня активність у сітківці ока змінюється за умов ЦД 1-го типу. У групі здорових щурів, що споживали природні комплекси поліфенолів винограду, активність СОД незначно зросла (на 8%) порівняно з контролем. Активність СОД у групі щурів, хворих на діабет, зменшилася на 45% порівняно з контролем (рис. 1).

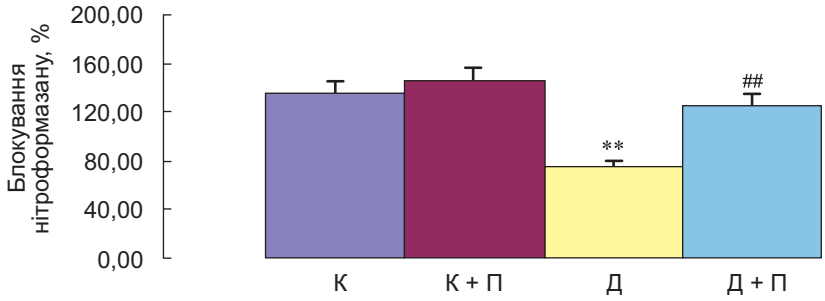

Рис. 1. Активність супероксиддисмутази у ретині:
К – контрольна група; К+П – контрольна група, що вживала препарат поліфенолів; Д – діабетична група; Д+П – діабетична група, що вживала препарат поліфенолів.
** P<0,01, відповідно, проти контрольної групи. ## P<0,01 проти групи щурів, хворих на діабет без споживання препарату

Fig. 1. The activity of superoxide dismutase in retinae:
К – control; К+П – control + polyphenols; Д – diabetic; Д+П – diabetic + polyphenols.
** P<0.01 compared with controls. ## P<0.01 compared with diabetic rats without polyphenols consumption

За умов метаболічної інтоксикації, що характерна для перебігу діабету, простежується нагромадження супероксиданіон-радикалу O_2^-. Він підлягає швидкій радикал-радикальній взаємодії з NO із утворенням медіатора окиснювального пошкодження клітин – пероксинітриту ($ONOO^-$).

Пероксинітрит, взаємодіючи з білками, нітрозилює їх за залишками тирозину, таким чином змінюючи їхню біологічну роль [13].

Окрім пероксинітриту, зафіксовано утворення продуктів протонізації оксиду азоту, які є особливо небезпечні для ферментів, оскільки здатні модифікувати амінокислотні залишки білків, що також може виявлятись у зниженні активності СОД [20]. Також можливий варіант безпосередньої взаємодії NO з Cu^{2+} в активному центрі СОД, що зумовлює інгібування її активності [20]. Це доповнюється характерним для діабету неферментативним глікозилюванням амінокислотних залишків, частина яких входить до складу активного центру ферменту, що також впливає на активність ензиму.

За умов споживання препарату поліфенольних комплексів групою тварин, уражених діабетом, активність СОД зростає на 69% порівняно з групою щурів, хворих на діабет, які не споживали препарат (рис. 1). Відомо, що поліфеноли мають протекторні властивості і є скавенджерами АФК [15]. Зокрема, вони здатні „відтягувати” на себе новоутворені супероксиданіон-радикали й інші АФК, що зменшує утворення інших небезпечних речовин, зокрема пероксинітриту [15].

Визначення активності КТ засвідчило, що за умов споживання препарату поліфенольних комплексів контрольною групою порівняно з контролем без споживання поліфенолів достовірних змін не спостерігається (рис. 2). За умов ЦД активність каталази знижується на 29% порівняно з контрольною групою. Зменшення активності можна пояснити аналогічно тому, що відбувається з СОД.

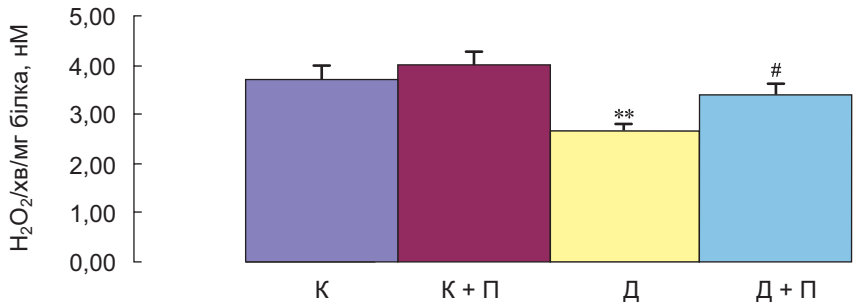

Рис. 2. Активність каталази у ретині:
К – контрольна група; К+П – контрольна група, що вживала препарат поліфенолів; Д – діабетична група; Д+П – діабетична група, що вживала препарат поліфенолів.
** P<0,01, відповідно, проти контрольної групи. # P<0,05 проти групи щурів, хворих на діабет без споживання препарату

Fig. 2. The activity of catalase in retinae:
К – control; К+П – control + polyphenols; Д – diabetic; Д+П – diabetic + polyphenols.
**P<0.01 compared with controls. # P<0.05 compared with diabetic rats without polyphenols consumption

На сьогодні відомо, що цукровий діабет характеризується зростанням продукції NO, а це також має свій певний вплив на роботу ферментативної антиоксидантної системи. Зокрема, оксид азоту зв'язується з ферумпорфіриновим комплексом у складі каталази, утворюючи нітрозопохідні. Поява гем-NO комплексів перешкоджає зв'язуванню H_2O_2 у активному центрі каталази, а також його розкладу. Нітрит-іони також здатні безпосередньо зв'язуватись із Ферумом гема каталази, що може зумовлювати зниження активності ензиму [20].

За умов споживання препарату поліфенольних комплексів щурами, що уражені діабетом, спостерігається зростання активності КТ на 28,7%, а це лише на 8% нижче від показників контролю (рис. 2). Застосування цих антиоксидантів веде до зниження перебігу вільнорадикального окиснення і, як наслідок, – зростання активності ферменту. Цей механізм є спільним для усіх ензимів АОС.

За ОС особливо важливою є глутатіонова система (ГС). Вона ефективно захищає клітини від його впливу і тому за умови її недостатності або виснаження виникають важкі наслідки для організму. ГС безпосередньо знешкоджує АФК, або, як „друга лінія оборони" після СОД і КТ, доповнює і завершує роботу „першої лінії" та виправляє її похибки [20].

Зокрема, знешкодження пероксиду водню, окрім КТ, здійснює і ГПО, спорідненість якої до H_2O_2 значно вища ніж у КТ [16]. За умов діабету активність ГПО у сітківці ока знижується на 33%, а ГР на 29,5% порівняно з контрольною групою

щурів (рис. 3, *А, Б*). Активність ГПО залежить від вмісту відновленого глутатіону, внутрішньоклітинну концентрацію якого підтримує ГР. Функціонування ж ГР, у свою чергу, визначається рівнем відновлених нікотинамідних коферментів. За умов ЦД спостерігається енергетичне збіднення організму, що зумовлює виникнення дефіциту енергетичних субстратів, що прямо пропорційно впливає на ефективність захисних систем. Немає достатньої кількості енергетичних субстратів – немає ефективного захисту. При споживанні препарату природних поліфенольних комплексів винограду хворими тваринами спостерігається відновлення активності ГПО і ГР відповідно на 70% і 33% порівняно з тваринами з ЕЦД без споживання поліфенолів (рис. 3, *А, Б*).

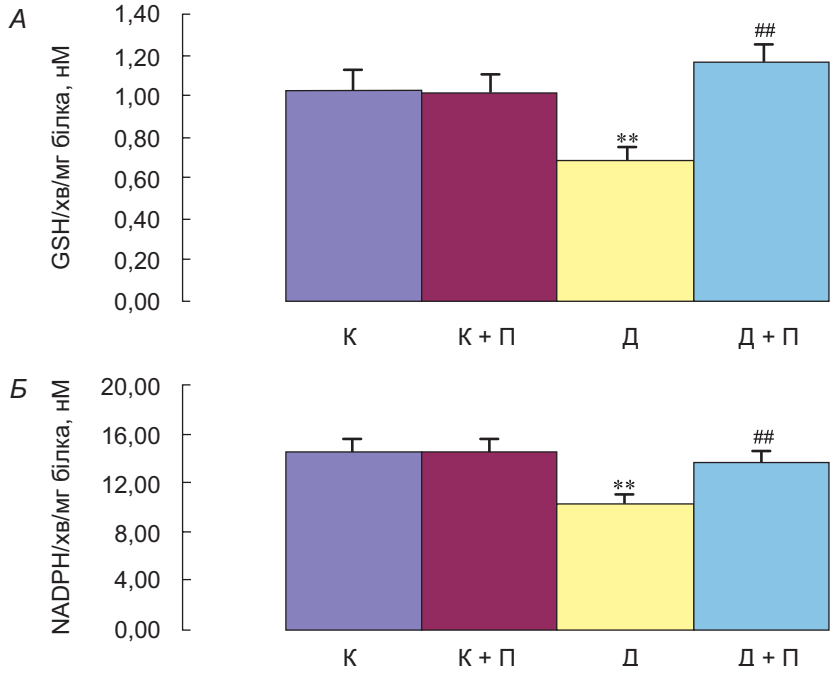

Рис. 3. Активність ферментів АОС у ретині: А – ГПО, Б – ГР:
К – контрольна група; К+П – контрольна група, що вживала препарат поліфенолів; Д – діабетична група; Д+П – діабетична група, що вживала препарат поліфенолів.
** P<0,01, відповідно, проти контрольної групи. ## P<0,01 проти групи щурів, хворих на діабет, без споживання препарату

Fig. 3. The activity of antioxidant enzyme system in retinae: A – GPO, Б – GR:
К – control; К+П – control + polyphenols; Д – diabetic; Д+П – diabetic + polyphenols.
**P<0.01 compared with controls. ## P<0.01 compared with diabetic rats without polyphenols consumption

АФК є головними чинниками ініціювання реакції ПОЛ, які здатні взаємодіяти з ацильними залишками ліпідів мембран, ліпопротеїнами різної густини і вільними ненасиченими жирними кислотами [20]. Основним маркером ПОЛ є наявність ТБК-позитивних продуктів. Так, за умов діабету ми спостерігали зростання кількості ТБК-позитивних продуктів удвічі порівняно з контролем (рис. 4).

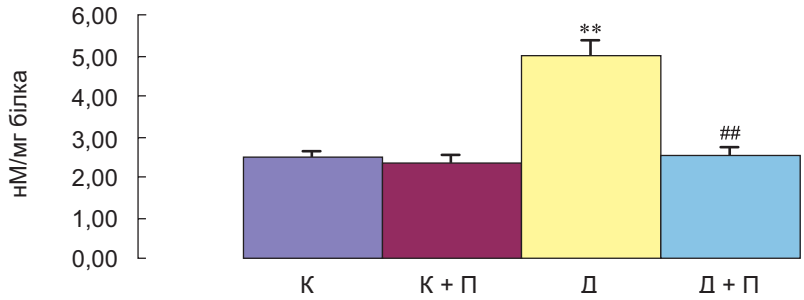

Рис. 4. Вміст ТБК-позитивних продуктів ПОЛ:
К – контрольна група; К+П – контрольна група, що вживала препарат поліфенолів; Д – діабетична група; Д+П – діабетична група, що вживала препарат поліфенолів.
** P<0,01, відповідно, проти контрольної групи. ## P<0,01 проти групи щурів, хворих на діабет без споживання препарату

Fig. 4. TBK-positive content of LPO products:
К – control; К+П – control + polyphenols; Д – diabetic; Д+П – diabetic + polyphenols.
**P<0.01 compared with controls. ## P<0.01 compared with diabetic rats without polyphenols consumption

Це пояснюється тотальним окисненням ліпідів активними формами кисню, що веде до нагромадження первинних і вторинних продуктів окиснення, зокрема малонового альдегіду [20]. За споживання групою діабетиків поліфенолів цей показник нормалізується до значень контролю. Інтенсифікація процесів ПОЛ зумовлюється зміною концентрації вільних радикалів. Чим ця концентрація більша, тим інтенсивніші процеси ПОЛ. Поліфенольні комплекси, виступаючи скавенждерами, зумовлюють зниження рівня вільних радикалів, а отже, знижують рівень кінцевих продуктів ПОЛ.

ВИСНОВКИ

За умов ЦД відбувається зниження активності ферментативної АС сітківки ока, що свідчить про розвиток у цій тканині процесів оксидативно-нітрозативного стресу і призводить до виникнення та розвитку ретинопатій.

Природні поліфенольні комплекси винограду володіють значним антидіабетичним ефектом як на рівні цілого організму, захищаючи його від зневоднення, так і шляхом підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту в сітківці ока. Зокрема, активність СОД, КТ, ГПО і ГР у групах з ЕЦД, що споживали препарат поліфенольних комплексів, відповідно зросла на 69, 28,7, 70 і 33%. Кількість ТБК-позитивних продуктів знизилася на 49%.

Детальне вивчення біохімічних механізмів дії поліфенолів винограду потребує подальших досліджень, проте, без сумніву, препарати, отримані на основі винограду, можуть бути використані при лікуванні ускладнень цукрового діабету і при створенні нових антидіабетичних ліків.

ПІДТРИМКА І ПОДЯКИ

Роботу виконано за фінансової підтримки Західно-Українського Біометричного Дослідницького Центру (індивідуальний грант А. Р. Гнатуша на 2011–2012 рр.).

1. *Crawford T.N., Alfaro D.V. 3rd, Kerrison J.B., Jablon E.P.* Diabetic retinopathy and angiogenesis. **Curr. Diabetes Rev,** 2009; 5(1): 8–13.
2. *Daglia M., Papetti A., Grisoli P.* et al. Antibacterial activity of red and white wine against oral streptococcin. **J. Agric. Food Chem**, 2007; 55 (13): 5038–5042.
3. *Frank R.N.* Diabetic retinopathy. **N. Engl. J. Med,** 2004; 350: 48–58.
4. *Goldberg D.M., Spooner R.J., Bergmeyer H.U.* Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed. Weinheim: **Verlag Chemie.** 1983; 5(3): 258–265.
5. *Gouni-Berthold I., Krone W.* Diabetic ketoacidosis and hyperosmolar hyperglycemic State. **Med. Klin. (Munich),** 2006; 101 (Suppl 1): 100–105.
6. *Kato N., Yashima S., Suzuki T.* et al. Long-term treatment with fidarestat suppresses the development of diabetic retinopathy in STZ-induced diabetic rats. **Diabetes Complications**, 2003; 17: 374–379.
7. *Kitabchi A.E., Umpierrez G.E., Fisher J.N.* et al. Thirty years of personal experience in hyperglycemic crises: diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state. **Journ. of Clinical Endocrinology and Metabolism,** 2008; 93(5): 1541–1552.
8. *Lowri O.H., Rosenbraugh M.J., Pori A.L* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Biol. Chem,** 1951; 193(1): 265–275.
9. *Marfella R., Cacciapuoti F., Siniscalchi M.* et al. Effect of moderate red wine intake on cardiac prognosis after recent acute myocardial infarction of subjects with Type 2 diabetes mellitus. **Diabet Med**, 2006; 23(9): 974–981.
10. *Montilla P., Barcos M., Munoz M.C.* et al. Red wine prevents brain oxidative stress and nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. **J. Biochem. Mol. Biol**, 2005; 38(5): 539–544.
11. *Napoli C., Balestrieri M.L., Sica V.* et al. Beneficial effects of low doses of red wine consumption on perturbed shear stress-induced atherogenesis. **Heart Vessels,** 2008; 23(2): 124–133.
12. *Tapp R.J., Shaw J.E., Harper C.A.* et al. *AusDiab Study Group*. The prevalence of and factors associated with diabetic retinopathy in the Australian population. **Diabetes Care,** 2003; 26(6): 1731–1737.
13. *Viktor R. Drel, Nataliya Sybirna.* Protective effects of polyphenolics in red wine on diabetes associated oxidative/nitrative stress in streptozotocindiabetic rats. **Cell Biol. Int,** 2010; 34: 1147–1153.
14. *Бездетко А. В., Горбачева К. С.* Эпидемиология и частота сахарного диабета и диабетической ретинопатии. **Междунар. эндокрин. журн,** 2006; 4(6): 76–80.
15. *Дрель В.Р., Гнатуш А.Р., Яланецький А.Я. та ін.* Поліфеноли виноградних вин запобігають накопиченню нітротирозину та активації parp-1 у сітківці ока щурів із стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом. **Мед. хімія,** 2010; 1(42): 2–33.
16. *Іванушко Я.Г., Гриневич Ю.П., Липська А.І.* Вплив рентгенівського випромінення на ферменти антиокиснювального захисту печінки щурів. **Ядерна фізика та енергетика,** 2009; 10(1): 76–79.
17. *Королюк М.А., Иванова И.Г., Майорова И.Г.* Метод определения активности каталазы. **Лаб. дело**, 1988; 1: 16–18.
18. *Меньшикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К.* и др. **Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты.** Москва, 2006: 411–413.
19. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. **Лаб. дело,** 1986; 12: 124–126.
20. *Сибірна Н.О., Маєвська О.М., Барська М.Л.* **Дослідження окремих біохімічних показників за умов оксидативного стресу**: Навч.-метод. посібник. Львів: Видавн. центр ЛНУ ім. І. Франка, 2006. 60 с.
21. *Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И.* Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение. **Лаб. дело,** 1981; 4: 209–211.

22. *Чевари С., Андял Т. Д., Штиренгер Д.* Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте. **Лаб. дело,** 1991; 10: 9–13.

THE ANTIOXIDANT EFFECT OF NATURAL POLYPHENOLIC COMPLEXES OF GRAPE WINE IN THE RAT RETINA UNDER STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS

A. R. Gnatush[1], V. R. Drel[1], A. Ya. Yalaneckyy[2], V. I. Mizin[2], V. A. Zagoruyko[2], V. G. Gerzhykova[2], N. O. Sybirna[1]

[1]Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hryshevskyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: gnatuk88@ukr.net

[2] National Institute for Vine and Wine „Magarach", 31, Kirov St., Yalta 98600, Crimea, Ukraine

The protective effects of natural polyphenolic complexes of the grape wine on antioxidant system in retinae of rats under streptozotocin-induced diabetes mellitus are established. It was shown that proposed level of polyphenol speciment of the grape wine that was consumed did not change blood glucose concentrations in control and diabetic groups of animals. During the experiment the body weight of control group and diabetic groups of rats with consumption of studied speciment was significantly increased. The polyphenols completely or partially normalized the work of enzymatic antioxidant system (superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase and glutathione peroxidase). It was shown that level of products of lipid peroxidation in the groups of rats with and without consumption of polyphenol speciment differed significantly. The presented results allow to suggest an important role of speciment of grape wine in preventing and treatment of diabetes retinopathy.

Key words: diabetes mellitus, polyphenolic complexes, diabetes retinopathy, oxidative stress, antioxidant protection.

ПРОТЕКТОРНЫЙ АНТИОКСИДАНТНЫЙ ЭФФЕКТ ПРИРОДНЫХ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ВИНОГРАДА В СЕТЧАТКЕ ГЛАЗА КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ИНДУЦИРОВАННЫМ СТРЕПТОЗОТОЦИНОМ

А. Р. Гнатуш[1], В. Р. Дрель[1], А. Я. Яланецкий[2], В. Г. Гержикова[2], В. И. Мизин[2], В. А. Загоруйко[2], Н. А. Сибирная[1]

[1]Львовский национальный университет им. Ивана Франко,
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: gnatuk88@ukr.net

[2]Национальный институт винограда и вина „Магарач",
ул. Кирова, 31, Ялта 98600, АР Крым, Украина

Исследовано протекторное воздействие природных полифенольных комплексов винограда на антиоксидантную систему сетчатки глаза крыс в условиях стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета. Показано, что предложенное количество препарата природных полифенольных комплексов винограда,

которое потреблялось, – не влияет на уровень глюкозы в крови животных, больных диабетом, и контрольной группы. Экспериментально установлен рост массы тела здоровых крыс и животных, пораженных сахарным диабетом, в условиях потребления исследуемого препарата. Установлено, что полифенолы, входящие в состав выделенного препарата, частично или полностью нормализуют работу ферментативной антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы) в ткани сетчатки глаза.

Выявлены существенные различия количества продуктов перекисного окисления липидов в группах больных диабетом крыс с и без потребления препарата. Полученные результаты подтверждают целесообразность использования препарата полифенольных комплексов винограда для профилактики и лечения диабетических ретинопатий.

Ключевые слова: сахарный диабет, полифенольные комплексы, диабетическая ретинопатия, оксидативный стресс, антиоксидантная защита.

Одержано: 23.07.2011