



УДК 577:663.2:617.735-002-02: 612.466.21

НЕФРОПРОТЕКТОРНА ДІЯ ВИНОГРАДНИХ ВИН У ЩУРІВ ІЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

В. Р. Дрель, Н. О. Сибірна

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: drelvictor@gmail.com.*

Виявлено, що поліфеноли червоного та білого виноградних вин частково або повністю нормалізують співвідношення ваги нирки до ваги тіла, рівень нітрозин-модифікованих білків і активність полі(ADP-рибоза)полімерази-1 у нирках щурів із цукровим діабетом порівняно з групою хворих на діабет тварин, які не споживали вин.

Ключові слова: діабетична нефропатія, поліфеноли, оксидативно-нітрозативний стрес.

Захворюваність на діабет в останні десятиліття досягла епідемічних показників. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), у 2009 р. вже більше 200 млн людей хворіють на цукровий діабет [2]. За рівнем смертності дане захворювання займає четверте місце. У понад 40% пацієнтів, які хворіють на цукровий діабет 15 і більше років, незалежно від типу діабету (1-го чи 2-го), розвивається діабетична нефропатія (відома також як синдром Кіммельстіла–Вільсона). Дана патологія є характерною для хворих, які не стежать за рівнем глюкози у крові та в організмі яких цей показник досягає високого значення на тривалі періоди. Для лікування даного ускладнення поряд із медикоментозним зниженням рівня глюкози використовують інгібітори ангіотензин-трансформуючого ензиму (АСЕ), антизапальні препарати, в тому числі інгібітори циклооксигенази-2, різні антибіотики та ін. [9]. Дані методи лікування спрямовані на подолання цілого комплексу патологічних процесів у діабетичній нирці, та, на жаль, вони не можуть гарантувати запобігання подальшому прогресові захворювання. У разі ж розвитку діабетичних нефропатій необхідні діаліз крові та трансплантація, без яких дані ускладнення призводять до смерті. На даний час не запропоновано ліків, які б запобігали діабетичним нефропатіям на ранніх етапах виникнення та в цілому перешкождали б їхньому формуванню. Таким чином, пошук нових препаратів, на основі яких можуть бути створені ліки проти хронічних уражень за умов цукрового діабету та діабетичної нефропатії зокрема, є на даний час надзвичайно актуальним.

Діабетична нефропатія виникає як наслідок цілого комплексу різноманітних патологічних процесів, котрі формуються насамперед у капілярах і дрібних судинах

нирки. Як і всі мікроангіопатії, дане захворювання реалізується шляхом виникнення та прогресування ендотеліальної дисфункції. Як відомо, на клітинному рівні клубочок нирки складається з ендотеліоцитів (вистеляють капіляри клубочків зсередини), епітеліальних клітин – подоцитів (вистеляють капіляри ззовні, формують фільтрувальний бар'єр) і мезангіальних клітин (елементи гладеньком'язової тканини, розташовуються навкруги капілярів і залучені до регулювання швидкості кровотоку). За умов мікроангіопатій має місце порушення функціонування клітин усього клубочка. Паралельно з мікроангіопатіями у 80% випадків ураження нирки було виявлено автоімунну й імунокомплексну природу [16].

Так, на початкових етапах у результаті гіперглікемії за умов як 1-го, так і 2-го типів діабету, посилюється утворення вільних радикалів, насамперед супероксид-аніону. Цей радикал відразу перетворюється в інші активні форми кисню, серед яких гідроксил-радикал, пероксид водню та пероксинітрит (ONOO⁻) [12, 18]. Утворення пероксинітриту в результаті підвищеного вмісту вільних радикалів є одним із ключових моментів, які характеризують початок оксидативно-нітрозативного стресу в клітині. Пероксинітрит, взаємодіючи з білками, нітрозилує їх за залишками тирозину, таким чином змінюючи їхню біологічну роль. Рівень нітрозильованих білків напряму пов'язаний із хронічними патологіями, характерними для захворювання на діабет. Підвищений рівень нітрозильованих білків за умов гіперглікемії за діабету як 1-го, так і 2-го типів було виявлено в сідничному нерві (шванівських клітинах), нирках (мезангіальних клітинах), сітківці ока [5, 12].

Пероксинітрит та інші активні форми кисню здатні модифікувати білки, ліпіди і ДНК. У відповідь на пошкодження ДНК активується ядерний ензим полі(ADP-рибоза) полімераза-1 (PARP-1), який, завдяки своєму доменові типу „цинкових пальців”, здатний знаходити одно- та двониткові розриви у ДНК. Показано також, що активація PARP-1 за умов цукрового діабету призводить до переродження перицитів кровоносних судин сітківки ока та подальшої їх втрати, збільшує адгезивність лейкоцитів до ендотеліальних клітин, стимулює продукцію ендотеліального фактора росту й індукує початок патологічного ангіогенезу [14]. За багатьох патологічних умов PARP-1, використовуючи NAD⁺ як субстрат, формує нікотинамід і (ADP)-рибозу, яку приєднує до ряду ядерних і окремих цитоплазматичних білків та полімеризує її [1].

Одним із білків, які зазнають полі-ADP-рибозилування, є гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа. У результаті цього даний ензим інгібується. Як наслідок – гліколітичний цикл утилізації глюкози пригнічується, що, своєю чергою, призводить до накопичення метаболітів (сорбітол, фруктоза, уридинфосфат-N-ацетилглюкозамін, метилглюксал) і активації ряду сигнальних та метаболічних шляхів, не характерних для фізіологічних умов. Поряд з активацією PARP-1 та інтенсифікацією оксидативно-нітрозативного стресу, найважливішими патогенетичними механізмами в розвитку діабетичної нефропатії виділяють: активацію протеїнкінази С, зростання активності альдозоредуктази (з подальшою акумуляцією продуктів поліольного шляху – фруктози та сорбітолу), що в кінцевому результаті призводить до значного посилення неферментативного глікозилювання білків [1, 11].

Зростання вмісту кінцевих продуктів неферментативного глікозилювання (AGEs) викликає посилення їхньої взаємодії зі специфічними рецепторами до даних продуктів (RAGE) на мембранах клітин і органел, у результаті чого активуються каскади внутрішньоклітинного сигналювання за участю протеїнкінази С, що призводить до продукції ряду запальних цитокінів, васкулярних молекул клітинної

адгезії-1, міжклітинних молекул адгезії-1, L-селектину та ін. Усе це сприяє подальшим патологічним змінам (спочатку індукції запального процесу із залученням клітин імунної системи, збільшенню вмісту ангіотензину-II, підвищенню клубочкового тиску крові та швидкості фільтрації, пізніше посиленням запального процесу, початком мікроальбумінурії та мікропротеїнурії, яка переростає у макропоказники). Паралельно з даними патологічними змінами поступово відбувається апоптоз подоцитів, що призводить до різкого зменшення їхньої кількості. Усі ці зміни призводять до потовщення фільтруючого бар'єру із залученням сполучних і структурних білків, у першу чергу колагену типу IV, з подальшим прогресуванням фіброгенезу аж до повної втрати фізіологічної функції клубочка. Запальні процеси у клубочках нирок на рівні цілого органа характеризуються значним збільшенням його в розмірах і вазі [8].

В останні роки виявлено важливу роль поліфенолів червоних вин, серед яких виділяють проантоціаніди, ресвератрол, катехіни, галову кислоту, мірицетин, кверцитин і ряд інших похідних флавоноїдів у запобіганні серцево-судинним захворюванням [4, 10]. Відомо, що поліфеноли червоних вин здатні взаємодіяти з білками плазми та клітинними елементами крові, запобігаючи передчасному окисненню їхніх молекулярних комплексів, спричиненому оксидативним стресом. Ці речовини здатні модифікувати активність ряду ферментів, виявляючи хелатуючі властивості. Також показано значну бактерицидну й антивірусну дію поліфенолів [3, 10]. Виявлено протекторну дію поліфенолів червоних вин на деякі системи й органи за умов оксидативного стресу за цукрового діабету та метаболічного синдрому [15]. Однак протекторна здатність поліфенолів виноградних вин за умов цукрового діабету на сьогоднішній день є маловивченою і потребує подальших досліджень, зокрема щодо процесу нітрузування білків та механізму розвитку діабетичної нефропатії.

Метою даної роботи було на клітинному рівні організації клубочкового апарату оцінити і порівняти протекторний вплив поліфенолів червоного та білого вин за їхньою здатністю запобігати утворенню нітротирозин-модифікованих білків і активації PARP-1 у нирках щурів за умов стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експерименти проводили згідно із „Загальними принципами роботи на тваринах”, затвердженими І Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) на щурах-самцях лінії Wistar масою 150–200 г.

У роботі використовували кролячі антитіла до нітротирозину („Upstate”, США), до білка нефробластоми-1 (WT-1) (“Santa Cruz”, США), мишачі антитіла до полі(ADP-рибози) („Trevigen, Inc.”, США), козячі антикролячі, мічені пероксидазою, („Vector Laboratories”, США), набір реактивів Avidine D-Biotine blocking kit, („Vector Laboratories”, США), авідин-біотин-пероксидазний комплекс Vector Elite kit („Vector Laboratories”, США), набір реактивів з 3-амінобензидином DAB substrate-kit („Vector Laboratories”, США), реактив для посиленої хемілюмінесценції („Amersham”, Велика Британія).

Для індукції 1-го типу діабету щурам доочеревинно вводили стрептозотоцин (50 мг/кг) в цитратному буфері (pH 5,5). Хворими на діабет вважали ті тварини, рівень глюкози у крові яких був ≥ 15 mM, оскільки нижчі показники характеризують предіабетичний стан.

Щури були розділені на 6 груп: 1) контроль, 2) контроль + біле вино, 3) контроль + червоне вино, 4) діабет, 5) діабет + біле вино, 6) діабет + червоне вино. Щури споживали розведене у питній воді вино в дозі, що відповідає 300 мл вина/70 кг

маси тіла/добу (з моніторингом і корекцією об'єму кожної доби), протягом двох тижнів перед індукцією діабету та протягом місяця після початку захворювання. Біле столове вино було виготовлене зі сорту винограду „Ркацител” за кахетинською технологією, червоне – зі сорту винограду „Каберне-Совіньйон” за класичною технологією. Вміст титрованих кислот був відповідно 4,5 та 5,47 г/дм³; масова концентрація фенольних сполук становила відповідно 1700,00 та 2309,31 мг/дм³; масова концентрація барвників – відповідно 0 та 443,8 мг/дм³; масова концентрація процианідинів відповідно 780,0 та 936,0 мг/дм³.

По закінченню експериментів забій щурів здійснювали шляхом декапітації. Нирки зважували, одну частину негайно заморожували в рідкому азоті для подальшого використання в імуно-блот-аналізі, а іншу частину фіксували у 4% забуференому формаліні для імуногістохімічного аналізу.

Заморожені зразки тканин зважували і додавали буфер екстракції білків з розрахунку (1:10 ваги/об'єм), який містить 50 мМ Трис-НCl, рН 7,2; 150 мМ NaCl; 0,1% додецилсульфат натрію (SDS); 1% NP-40; 5 мМ EDTA; 1 мМ EGTA; 1% дезоксихолат натрію й інгібітори протеаз і фосфатаз. Нерозчинну у детергенті фракцію осаджували центрифугуванням при 14000 g протягом 20 хв при 4°C. Концентрацію білка визначали за методом Петерсона [13]. Електрофорез та електроперенос здійснювали, як описано у роботі [5]. Мембрану інкубували з першими антитілами (поліклональними антинітротирозиновими у розведенні 1:1000) у блокуючому буфері протягом 2 год. Відмивання проводили у забуференому фізіологічному буфері (ЗФР) з 0,1% Твін-20 3 рази по 5 хв. Відмиту мембрану інкубували з другими анти-кролячими антитілами, міченими пероксидазою хрому у розведенні 1:2000, у блокуючому буфері протягом 1 год. Мембрану відмивали в ЗФР з 0,1% Твін-20, три рази по 5 хв. Імунореактивні сигнали на мембрані виявляли за допомогою інкубації мембрани з набором реактивів для посиленої хемілюмінесценції згідно з протоколом виробника. Мембрану після інкубації з хемілюмінесцентними реактивами експонували на рентгенівській плівці. Для контролю однакового вмісту білків у зразках мембрану відмивали від перших і других антитіл буфером, що містив: 25 мМ гліцин-НCl, рН 2,5, 1% SDS протягом 30 хв. Мембрану повторно витримували у блокуючому буфері 30 хв та повторно інкубували з анти-β-актиновими антитілами („Sigma”, США). Денситометрію відсканованих рентгенівських плівок проводили за допомогою програми Gel Pro 3.1.

Світлову мікроскопію нирок проводили, як описано у роботі [5]. Спостереження світлової мікроскопії клубочків нирки були зроблені, використовуючи x40 акроплановий об'єктив мікроскопа Nikon Optiphot 2 („Nikon”, Японія) та відеокамери для мікроскопа DCM310 з програмним забезпеченням ScopePhoto. Інтенсивність сигналів на знімках визначали за допомогою програмного забезпечення ImageJ 1.32 software („National Institutes of Health”, США). Репрезентативні фотографії представляють середнє значення інтенсивності, обчислене для кожної групи (n=5–7).

Статистичні підрахунки отриманих даних проводили з використанням критерію 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 статистичні програми Origin 7.0, Biostat 2008, Excel-2003.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що остаточна маса контрольних щурів і щурів, які споживали біле та червоне вина, зросла в середньому на 47%, порівняно з початком експерименту (табл. 1). У той же час маса тіла хворих на діабет щурів, які споживали червоне вино достовірно ($p < 0,05$) зросла на 18%, порівняно з вихідними даними на момент початку експерименту. Із результатів, представлених у табл. 1, видно, що виноградні вина не мали коригуючого впливу на рівень глюкози як у контрольних, так і в діабетичних групах. Виявлено, що показник співвідношення маси нирки до маси тіла хворих на діабет щурів, які споживали червоне вино, достовірно ($p < 0,01$) відрізняється як від контрольної групи, так і від групи хворих на діабет, для яких даний показник достовірно ($p < 0,01$) збільшився на 95%, порівняно з контролем (рис. 1). Водночас у групі хворих на діабет щурів, які споживали біле вино, відношення маси нирки до маси тіла незначно зменшувалося порівняно з групою хворих на діабет (рис. 1).

Таблиця 1. Маса тіла та концентрація глюкози у крові контрольних і хворих на діабет щурів, які споживали червоне та біле вино ($M \pm m$, $n = 5-7$)

Table 1. Body weight and blood glucose concentrations in control and diabetic rats with or without red and white wines consumption ($M \pm m$, $n = 5-7$)

Групи	Показники	Глюкоза крові, мМ		Маса тіла, г	
		Початкова §	Кінцева	Початкова §	Кінцева
К		6,2 ± 0,9	6,1 ± 1,3	136,6 ± 15,5	211,3 ± 17,7
К+БВ		6,0 ± 1,3	6,1 ± 1,2	148,8 ± 9,8	202,5 ± 19,2
К+ЧВ		6,4 ± 0,7	6,5 ± 0,9	138,8 ± 12,4	205,0 ± 15,7
Д		14,5 ± 1,4 **	23,2 ± 2,4 **	141,0 ± 11,7	131,7 ± 12,9**
Д+БВ		14,3 ± 1,5 **	23,1 ± 3,7 **	147,0 ± 9,9	138,0 ± 10,4**
Д+ЧВ		14,1 ± 1,7 **	24,4 ± 4,8 **	144,0 ± 13,9	170,0 ± 15,6*.#

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

*, ** $p < 0,05$ and $< 0,01$ vs controls. # $p < 0,05$ vs diabetic rats without wine consumption. § – 3rd day after inductions of diabetes

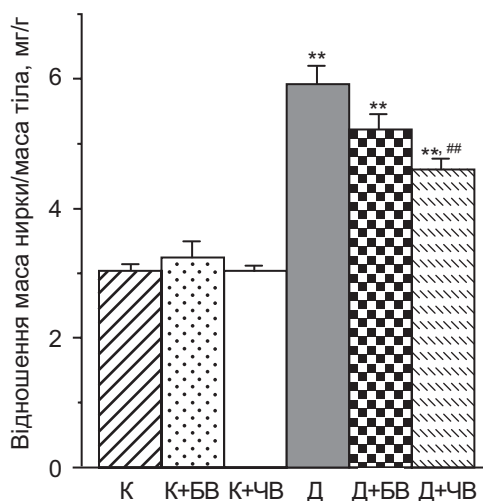


Рис. 1. Коефіцієнт співвідношення маси нирки (у мг) до маси тіла контрольних і хворих на діабет щурів з та без споживання вина (у г). ($M \pm m$, $n = 5-7$). ** $p < 0,01$, проти контрольної групи. ## $p < 0,01$, відповідно, проти групи щурів, хворих на діабет без споживання вина

Fig. 1. The ratio of kidney weight (in mg) to body weight of control and diabetic rats with and without wine consumption (in g). ($M \pm m$, $n = 5-7$). ** $p < 0,01$ vs controls. ## $p < 0,01$ vs diabetic rats without wine consumption

Червоне вино не знижувало рівня глюкози у крові діабетичної групи щурів, які його споживали, але водночас забезпечувало достовірний приріст ваги тіла ($p < 0,05$), і таким чином виконувало загальний протекторний вплив на організм.

Дані літератури вказують на те, що відносно високі дози ресвератролу, представника фітоалексинів, який входить до складу поліфенолів червоних виноградних вин, достовірно знижував рівень глюкози у крові й показники протеїнурії та гіперліпідемії (високі значення яких є характерними за умов діабетичної нефропатії) до норми у щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом. Описано, що ресвератрол виявляв щодо досліджуваних нами показників такий же вплив, як і у проведених нами експериментах [17]. Таким чином, рівень ресвератролу в досліджуваних нами винах є, з одного боку, недостатнім для зниження концентрації глюкози у крові хворих на діабет тварин, а з іншого боку – є дієвим для корекції індексу маси нирки, який характеризує її фізіологічний стан.

Високий вміст глюкози у крові, крім індукції різних біохімічних змін, призводить до її перетворення у сечовину, яка в результаті так званого процесу осмотичного діурезу виводиться з організму разом із необхідною для цього кількістю води й електrolітичних іонів K^+ та Na^+ [6]. Даний процес призводить до дегідратації організму, яка посилюється в подальшому у результаті індукції вивільнення жирних кислот із адипоцитів і подальшого їхнього перетворення в кетонів тіла (ацетоацетат і β -гідроксибутират) з відповідною індукцією кетоацидозу. Кетонів тіла викликають зниження значення рН, що зрештою призводить до втрати ємності бікарбонатної буферної системи крові та розвитку ацидозу. А це, своєю чергою, супроводжується посиленням осмотичного діурезу та втратою електrolітів організму. Такі явища можуть призводити до кето-ацидозних ком і смерті [7].

Роль пероксинітриду в патогенезі діабетичних мікро- та макроангіопатій, включаючи ендотеліальні, периферичні й автономні нейропатії та ретинопатії, є визначальною [5, 12]. Пероксинітрид спричиняє множинні цитотоксичні ефекти: активацію процесів перекисного окиснення ліпідів, нітрування та нітрозилування білків, ДНК-розриви, деполяризацію мітохондріальної мембрани, зміни механізмів клітинного сигналювання, активації PARP-1, а також може індукувати некроз і апоптоз [12, 18].

Вплив пероксинітриду оцінювали за вмістом нітротирозинових білків. Імуно-блот-аналіз показав зростання вмісту нітротирозину в нирках хворих на діабет щурів на 52% порівняно з контролем (рис. 2, а, б). Нітрозативний стрес за умов діабету при споживанні червоного вина нівелювався, про що свідчить відновлення рівня нітротирозину до рівня контролю ($p < 0,05$). За подібних умов при споживанні білого вина спостерігається лише тенденція до зменшення рівня нітротирозину.

Наступним маркерним показником уражень на рівні розриву ДНК є активність PARP-1 і кількість продуктів реакції полімеризації. Вміст полі(ADP)-рибози на мікрофотографіях гломерул нирки зростає на 37,5% у щурів, хворих на діабет. Прийом червоного вина нормалізував цей показник (рис. 3, а, б). Водночас за умов дії білого вина спостерігали незначну тенденцію до зменшення вмісту полі(ADP)-рибози у групі діабетичних щурів, які його споживали.

Посилення процесів оксидативно-нітрозативного стресу поряд із активацією PARP-1 у разі діабетичної нефропатії можуть призводити до апоптозу найбільш чутливих клітин клубочків – подоцитів. У подальшому процес викликає посилення фібриляції клубочків, потовщення стінок капілярів і втрату ними фільтрувальних функцій [17, 18]. Таким чином, кількість подоцитів є прямим свідченням здатності клубочків нирок здійснювати свої фізіологічні функції. Маркером подоцитів є білок

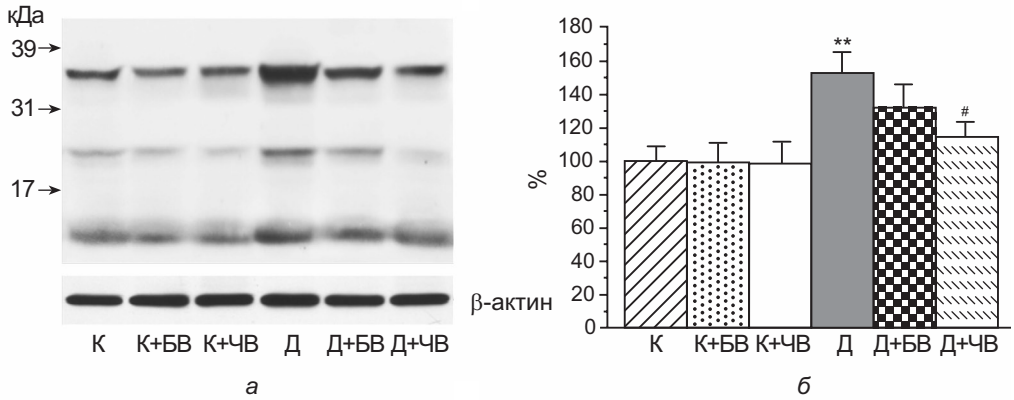


Рис. 2. Репрезентативний імуно-блот-аналіз зразків нирки контрольних і хворих на діабет щурів з та без споживання вина з використанням антитіл до нітритиозину (а) та вміст нітритиозин-модифікованих білків (б) (денситограма з використанням програми GelPro 3.1). Вміст нітритиозину в контрольній групі прийнято за 100%. ($M \pm m$, $n = 5-7$), ** $p < 0,01$, проти контрольної групи. # $p < 0,05$ проти групи щурів, хворих на діабет без споживання вина

Fig. 2. Representative Western blot of nitrotyrosine-modified proteins in the kidney of control and diabetic rats with and without wine consumption (a) and nitrotyrosine content (b), (analysis was performed by densitometry using GelPro 32 software). In control group nitrotyrosine content is taken as 100%. ($M \pm m$, $n = 5-7$). ** $p < 0.01$ vs controls. # $p < 0,05$ vs diabetic rats without wine consumption

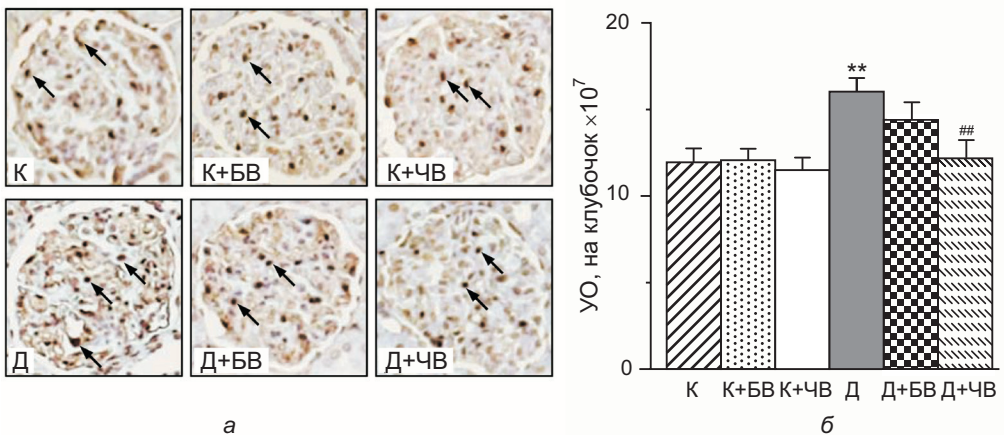


Рис. 3. Репрезентативні мікрофотографії світлової мікроскопії зразків клубочків нирок контрольних і хворих на діабет щурів з та без споживання вина з використанням антитіл до полі-ADP-рибози антитіл (а) та інтенсивність полі-ADP-рибозильованих білків (б), виражена в умовних одиницях (УО) за допомогою програми ImageJ. Стрілками вказані приклади полі-ADP-рибозильованих білків клітин клубочка, зафарбованих у темно-коричневий колір. ($M \pm m$, $n = 10-15$). ** $p < 0,01$, проти контрольної групи. ## $p < 0,01$ проти групи щурів, хворих на діабет без споживання вина

Fig. 3. Representative microphotographs of renal glomeruli poly(ADP-ribose) immunostaining in control and diabetic rats with and without wine consumption (a) and poly(ADP-ribose)-labeled protein content (relative units) (b), measured using ImageJ software. Arrowed examples of poly(ADP-ribose)-labeled proteins of glomeruli cells, stained in dark brown colour. $M \pm m$, $n = 10-15$. ** $p < 0.01$ vs controls; ## $p < 0.01$ vs vs diabetic rats without wine consumption

нефробластоми-1 (WT-1). Використавши антитіла до WT-1, вдалося показати, що кількість подоцитів на мікрофотографіях гломерули нирки щурів, хворих на діабет, становить у середньому 13, що майже в 1,8 разу менше, ніж у контролі. За умов споживання хворими тваринами червоного вина кількість подоцитів ($p < 0,01$) зростала до рівня контролю (рис. 4, а, б). У той же час за умов дії білого вина зростання кількості подоцитів було незначним порівняно з діабетичною групою.

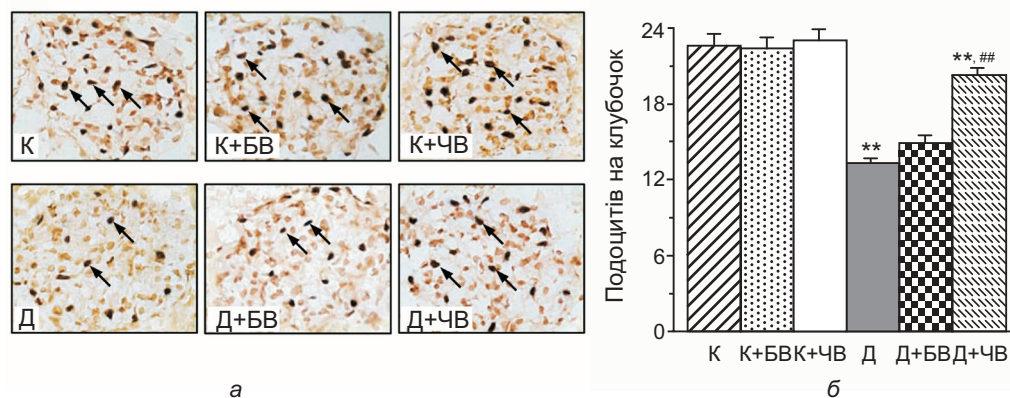


Рис. 4. Репрезентативні мікрофотографії світлової мікроскопії зразків клубочків нирок контрольних і хворих на діабет щурів з та без споживання вина з використанням антитіл до WT-1 (а) та кількість подоцитів на клубочок (б). Стрілками вказані приклади подоцитів, зафарбованих у темно-коричневий колір. ($M \pm m$, $n = 10-15$). ** $p < 0,01$, проти контрольної групи. ## $p < 0,05$ та $< 0,01$, відповідно, проти групи щурів, хворих на діабет без споживання вина

Fig. 4. Representative microphotographs of renal glomeruli WT-1 immunostaining in control and diabetic rats with and without wine consumption (a) and podocyte number per glomeruli (b). Arrowed examples of podocytes, stained in dark brown color. $M \pm m$, $n = 10-15$. ** $p < 0.01$ vs controls; ## $p < 0.05$ та < 0.01 , vs diabetic rats without wine consumption

Результати проведених досліджень показують, що вже на ранніх етапах розвитку цукрового діабету клітини гломерули нирки починають нагромаджувати нітритрозин, у них відбувається активація PARP-1, що в подальшому призводить до патологічних перетворень та індукції апоптозу, прямим свідченням чого є зміна кількості подоцитів. Поліфеноли червоного вина виявляють антидіабетичну дію як на рівні цілого організму, захищаючи його від зневоднення, так і шляхом зниження вмісту нітритрозину та полі(ADP)-рибозильованих білків у гломерулі нирки. Надзвичайно важливим для збереження належного функціонального стану нирки є антиапоптичний вплив поліфенолів виноградних вин щодо подоцитів. Детальне вивчення біохімічних механізмів дії поліфенолів червоних вин потребує подальших досліджень, проте, безсумнівно, що червоне вино та можливі препарати, отримані на його основі (екстракти поліфенолів), можуть бути використані при лікуванні ускладнень цукрового діабету та створенні нових антидіабетичних ліків.

ПОДЯКА

Автори статті висловлюють щирю подяку співробітникам Національного інституту винограду та вина „Магарач” (м. Ялта) А.Я. Яланецькому, В.Г. Гержиковій, В.І. Мізіну, В.А. Загоруйку за надані вина та їхні характеристики для проведення досліджень.

1. *Brownlee M.* The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes**, 2005; 54(6): 1615–1625.
2. *Cole A.R., Astell A., Green C., Sutherland C.* Molecular connexions between dementia and diabetes. **Neurosci. Biobehav**, 2007; 31(7): 1046–1063.
3. *Daglia M., Papetti A., Grisoli P.* et al. Antibacterial activity of red and white wine against oral streptococci. **J. Agric. Food. Chem**, 2007; 55(13): 5038–5042.
4. *Das S., Santani D.D., Dhalla N.S.* Experimental evidence for the cardioprotective effects of red wine. **Exp. Clin. Cardiol**, 2007; 12(1): 5–10.
5. *Drel V.R., Pacher P., Stevens M.J., Obrosova I.G.* Aldose reductase inhibition counteracts nitrosative stress and poly(ADP-ribose) polymerase activation in diabetic rat kidney and high-glucose-exposed human mesangial cells. **Free Radic. Biol. Med**, 2006; 40(8): 1454–1465.
6. *Gouni-Berthold I., Krone W.* Diabetic ketoacidosis and hyperosmolar hyperglycemic state. **Med. Klin.** (Munich), 2006; 101 (Suppl 1): 100–105.
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. **J. Clin. Endocrinol. Metab**, 2008; 93(5): 1541–1552.
8. *Landau D., Israel E., Rivkis I.* et al. The effect of growth hormone on the development of diabetic kidney disease in rats. **Nephrol. Dial. Transplant**, 2003; 18(4): 694–702.
9. *Marshall S.M.* Recent advances in diabetic nephropathy. **Postgrad. Med. J**, 2004; 80(949): 624–633.
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. *Negre-Salvayre A., Salvayre R., Augé N.* et al. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. **Antioxid. Redox. Signal**, 2009; 11(12): 3071–3109.
12. *Pacher P., Obrosova I.G., Mabley J.G., Szabó C.* Role of nitrosative stress and peroxynitrite in the pathogenesis of diabetic complications. Emerging new therapeutical strategies. **Curr. Med. Chem**, 2005; 12(3): 267–275.
13. *Peterson G.L.* A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. **Anal. Biochem**, 1977; 83(2): 346–356.
14. *Rajesh M., Mukhopadhyay P., Godlewski G.* et al. Poly(ADP-ribose)polymerase inhibition decreases angiogenesis. **Biochem. Biophys. Res. Commun**, 2006; 350(4): 1056–1062.
15. *Rodrigo R., Bosco C.* Oxidative stress and protective effects of polyphenols: comparative studies in human and rodent kidney. A review. **Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol**, 2006; 142(3–4): 317–327.
16. *Stitt-Cavanagh E., MacLeod L., Kennedy C.* The podocyte in diabetic kidney disease. **Scientific World Journal**, 2009; 9: 1127–1139.
17. *Tikoo K., Singh K., Kabra D.* et al. Change in histone H3 phosphorylation, MAP kinase p38, SIR 2 and p53 expression by resveratrol in preventing streptozotocin induced type I diabetic nephropathy. **Free Radic. Res**, 2008; 42(4): 397–404.
18. *Wagener F.A., Dekker D., Berden J.H.* et al. The role of reactive oxygen species in apoptosis of the diabetic kidney. **Apoptosis**, 2009; 14(12): 1451–148.

NEPHROPROTECTIVE EFFECT OF GRAPE WINE IN THE RAT WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

V. R. Drel, N. O. Sybirna

Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine

It was established that polyphenols of red and white grape wines completely or partially normalize kidney weight to body weight ratio, the level of nitrotyrosine modified

proteins and activity of poly-ADP-ribose polymerase-1 in the kidney of rats with diabetes mellitus, compared with diabetic animals without wine consumptions.

Key words: diabetic nephropathy, polyphenols, oxidative-nitrosative stress.

НЕФРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВИНОГРАДНЫХ ВИН У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

В. Р. Дрель, Н. А. Сибирная

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина*

Обнаружено, что полифенолы красного и белого виноградных вин частично или полностью нормализуют отношение массы почки к массе тела, уровень нитротирозин-модифицированных белков и активность поли(ADP-рибоза)полимеразы-1 в почках крыс с сахарным диабетом по сравнению с группой крыс, больных диабетом, без приёма вин.

Ключевые слова: диабетическая нефропатия, полифенолы, оксидативно-нитрозативный стресс.

Одержано: 04.11.2009