

НУТРИТИВНИ ЕФЕКТИ НА АНТИДИЈАБЕТИЧНА ДИЕТА ВРЗ КОНЦЕНТРАЦИЈАТА НА ТКИВНИТЕ АНТИОКСИДАНТИ КАЈ СТАОРЦИ СО ИНДУЦИРАН DIABETES MELLITUS

Чрчева-Николовска Радмила, Секуловски Павле, Проданов Ристо

Институтот за храна, Факултетот за ветеринарна медицина - Скопје

e-mail: rnikolovska@fvm.ukim.edu.mk;

АБСТРАКТ

За сити здрави животиински организми карактеристично е одржувањето на рамнотежата меѓу појавата на силно реактивен слободни радикали и нивната разградба од страна на антиоксидантите. Како последица на нарушување на оваа хомеостаза се јавуваат бројни болести. Со цел да се заобиколи или да се намали деструктивниот ефект на оксидативниот стрес врз биолошките системи, како терапија се користат исхраната. Оксидативниот стрес во овој момент се препорачува дека е одговорен за патофизиологијата на шеќерната болест. Постојат многу заклучоци кои укажуваат на промени во параметрите на оксидативниот стрес кај diabetes mellitus. Улогата на диеталната исхрана при тоа е да обезбеди правилен баланс на сити хранливи материји додека пак специјалните диети се важни за болните животиини. Комплексните јагле хидрати и диеталните влакна помагаат во забавувањето на апсорпцијата на глукозата од интестиналниот тракт и минимизирање на флукуациите во нејзиното ниво по оброците. Растворливите влакна во храната исто така можат да го продолжат времето на задржување во гастроинтестиналниот тракт, да овозможат поголема апсорпција на водата, и да помогнат во создавање на кратко синџиресни масни киселини кој ја хранат интестиналната мукоза.

Клучни зборови: диетална храна, оксидативен стрес, црн дроб, хипергликемија, дијабетични стаорци, diabetes mellitus.

ВОВЕД

Шеќерната болест (лат. diabetes mellitus) е хронично пореметување на метаболизмот на јагле хидратите како резултат на релативен или апсолутен недостаток на инсулин, кој се лачи во β - клетките на Langerhans-овите островца на панкреасот. Болеста може да се појави под дејство на еден или повеќе фактори, генетска предиспонираност, панкреатитис, неурогени фактори како што се стрес, зголемена телесна тежина, хиперфункција на предниот дел на хипофизата или кората на надбубрежната жлезда и било кој фактор кој предизвикува

- дегенерација на Langerhans-овите островца.
- Основно пореметување во случај на шеќерна болест е недостаток на инсулин што доведува до намалување на способноста на организмот во искористување на глукозата. Карактеристични знаци на шеќерната болест се: хипергликемија, излачување на глукоза во урината (glukosuria), зголемена количина на излачена урина (polyuria), зголемена жед (polidipsia), зголемено излачување на азот во урината, зголемена концентрација на слободни масни киселини во плазмата, масна дегенерација на црниот дроб, кетонемија, кетонурија, ацидоза, губиток на телесната тежина и дијабетична кома (1).

Шеќерната болест е честа ендокринопатија кај животните, се јавува кај кучиња и мачиња. Кај кучињата, хроничниот панкреатит и имуната деструкција на клетките на панкреасот се најзначајни причини за појава на шеќерна болест. Кај женските кучиња, двапати повеќе се појавува за разлика од кај машките. Постојат податоци за појава на шеќерна болест кај крави, коњи, свињи и овци (2) и често кај кучиња и мачки. Кај некој видови на птици исто така може да се појави хипергликемија (1,2).

Во основата на развитокот на шеќерната болест лежи оксидативниот стрес како и на нејзините компликации (3,4). Во прилог на ова се податоците добиени од страна на повеќе автори кои регистрирале намалување на концентрацијата на каталитичката активност на ензимите ткивен глутатион (GPx) и супероксид димутаза (SOD). Досегашните резултати од бројните испитувања поврзани со оксидативниот стрес, како и антиоксидативната заштита, особено кај шеќерната болест, сеуште се недоволни и донекаде контраверзни, за завземање на став во однос на определена терапија.

Експерименталниот *diabetes mellitus* не се појавува кај сите видови животни, ниту пак има ист степен на тежина. Кај месојадите експерименталниот *diabetes mellitus* е тежок и завршува смртно, ако не се контролира со апликација на инсулин, додека пак преживарите се поотпорни, покажуваат благи симптоми и можат без примена на инсулин да преживеат подолго време.

Прогнозата кај шеќерната болест зависи од рано дијагностицирање и адекватна терапија. Најголемиот број облици на шеќерна болест можат да се третираат со инсулин. Покрај инсулинската администрација диетарното регулирање игра важна улога во целосниот режим. (5)

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Wistar стаорци од машки пол беа користени како анимален модел, поделени во пет групи:

- контролна група С,
- група со диетална храна,
- стаорци со индуциран *diabetes mellitus*,

стаорци со индуциран *diabetes mellitus* и диетална храна и

стаорци со индуциран *diabetes mellitus* и инсулин.

Предизвикување на *diabetes mellitus*

Експерименталниот *diabetes mellitus* кај стаорците беше предизвикан со еднократно аплицирање i.p. на Streptozotocin (Sigma Aldrich Chemie, GmbH, Deutschland). Streptozotocin-от пред апликацијата го растваравме во цитратен пуфер 50 mM (pH 4.0) Пред апликацијата животните беа оставани 12 часа да гладуваат. Контролните животни добиваа еднаков волумен на цитратен пуфер.

Исхрана на експерименталните животни

Експерименталните животни се хранеа со сува храна тип *Purina Veterinars Diets Colitis Canine Formula DCo* произведена од NESTLE. Оваа храна ја добиваа животните од групата кај која имаше индуциран *diabetes mellitus* и една контролна група за да се забележи ефектот на храната. Нивото на глукоза во крвта кај групата со индуциран *diabetes mellitus* беше регулирано единствено со употреба на храната. За да се забележи разликата кај една од групите, кај која беше индуциран *diabetes mellitus* беше давана комерцијална храна за стаорци и инсулин за регулирање на нивото на глукозата.

Табела 1. Хемиски состав на сувата храна DCO формула

Влага 12%
Сурови протеини 23%
Сурови масти 12%
Пепел 7%
Сурови влакна 10%
Калциум 1.1%
Фосфор 0.95%
Скроб 31.3%
Шеќери 2.1%
М.Е. 3.42 kcal/g
Витамин А 23000 IU/kg
Витамин D3 1500 IU/kg
Витамин Е (alpha tocopherol) 220mg/kg

Според произведувачот DCO Diabetes COLitis е формула која обезбедува комплетна и избалансирана исхрана за кучиња. Високото ниво на сложени јаглехидрати, зголемена количина диететски хранливи влакна и умереното ниво на калории ги задоволуваат зголемените специфични потреби кај кучиња кој боледуваат од *diabetes mellitus* и *colitis*.

Диететската храна за регулација на глукозата доставува со понудата високо ниво на комплексни јаглехидрати и зголемено ниво на растворливи и нерастворливи влакна за да се минимизира променливоста на нивото на глукоза во крвта.

Високото ниво на комплексните јагленихидрати ги редуцира флукутациите на нивото на глукоза по оброкот.

Зголеменото ниво на диетални хранливи влакна го скратува времето на интестиналниот транзит, за да ја помогне слабата ресорпција на глукозата и со тоа ја контролира хипергликемијата. Кај кучиња со *diabetes mellitus*, влакната можат да ја помогнат спората апсорпција од интестиналниот тракт и да го редуцираат појадењето флукутирањето и хипергликемијата на глукозата во крвта. Влакната исто така ја подобруваат и нормализираат подвижноста на колонот.

Високо ниво на растворливи влакна го продолжува интестиналниот транзит, за поголема апсорпција на водата, и помага во продукцијата на кратко синџирести масни киселини кои ја исхрануваат интестиналната мукоза.

Зголемено ниво на омега-3-масни киселини помагаат во справувањето со воспалителниот процес, многу се важни кај некој форми на *diabetes mellitus*, потеклото е од рибиното масло.

Умерено ниво на диететски масти, калории и протеини ја задржуваат телесната кондиција.

Зголемено присуство на витамини овозможува намалување на диабетичните компликации т.е. зголемено ниво на витамин Е и *niacin* помага во метаболизмот на глукозата и масните.

Анализи за ткивни антиоксиданти

● Активност на супероксид дигуаза

Активноста на SOD во хепар беше определувана со сет за определување на SOD според методот на Winterbourn et al. (1975). Единицата за активноста на SOD е дефинирана како сума од ензимската активност која предизвикува 50% редукција на бојата, за време на реакцијата со супероксидниот анјон. Активноста на SOD во хепар се изразува во единици за SOD на mg протеин.

● Активност на глутатион редуктаза

Активноста на црнодробната глутатион редуктаза (GSSG-Red) беше определувана со сет за GSSG-Red по метод на Dolfen et al. (1989), а резултатите беа изразени во nm на NADPH оксидиран до NADP во минута на mg протеин.

● Содржина на глутатион (GSH)

Содржината на црнодробниот глутатион беше мерена со сет за вкупен глутатион според методот на Akerboom et al. (1981).

Биохемиски методи за анализа на параметри во ткиво

● Определување на количество на оксидирани протеини (AOPP)

Спектрофотометриски метод според Witko-Sarsat et al. (1996). Количеството на AOPP се изразува во nmol chloramin T на mg протеин.

● Определување на карбонилни соединенија по методот на Levine

За определување на содржината на карбонилните соединенија беше користен методот на Levine (1990) со мали модификации.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

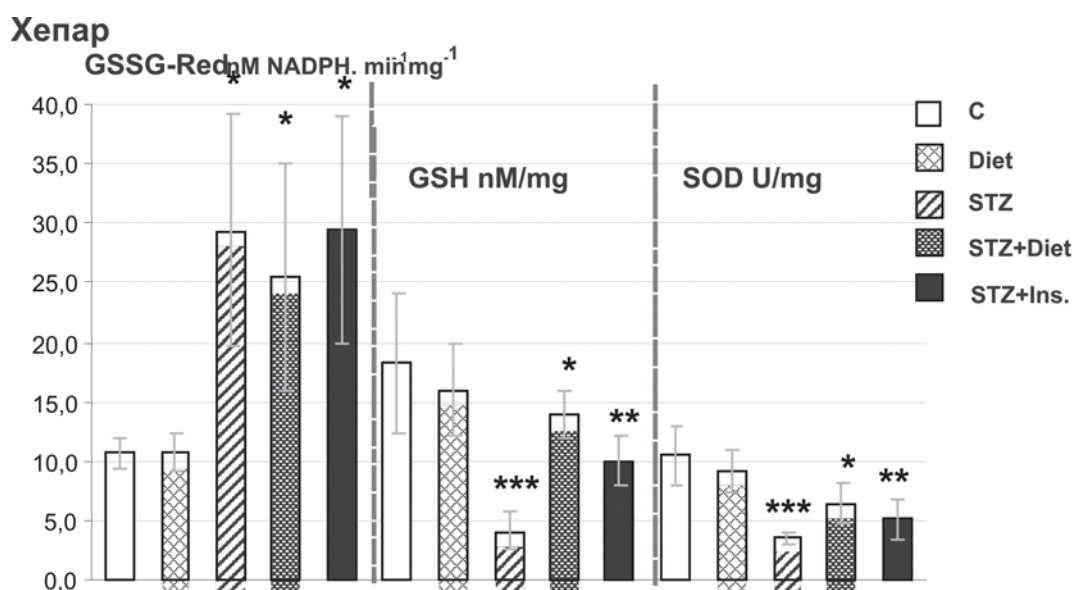
Сигнификантно намалување во активноста на SOD и вкупниот глутатион (GSH), беше забележана во црниот дроб на диабетичните животни споредени со контролните. Зголемувањето во концентрацијата на глукозата го потиснува природните антиоксиданти како SOD и GSH. Забележаното намалување во активноста на SOD може да е резултат на инактивацијата на H₂O₂ или

гликолизација на ензимите, која се забележува при појава на diabetes mellitus. Можен извор за оксидативен стрес кај шеќерната болест ја вклучува промената на редокс балансот резултат на променетиот метаболизам на јагле хидрати и масите, зголемувањето во создавањето на слободните кислородни групи, и намалувањето на нивото на антиоксидантите како GSH и SOD.

Од прикажаните вредности за добиените резултати за активноста на ткивните ензими (*SOD*, *TGSH* и *GSSG Red*) во улога на антиоксидативна заштита од контролната група животни и групата под диетален третман се забележува дека на крајот од експериментот концентрацијата на SOD кај

животните под диетален третман не е променета што не е случај кај групите кој се третирани со STZ, кај кои покажува високо сигнификантна разлика ($p<0.001$) во однос на онаа кај контролната група животни. Исто таква високо сигнификантна разлика ($p<0.001$), покажува концентрацијата на вкупниот глутатион кај животните под експериментален третман кој е намален во однос на контролната група животни. Вредностите на глутатион редуктазата кај животните под експериментален третман се зголемени во однос на истите кај контролната група и покажуваат високо сигнификантна разлика ($p<0.001$).

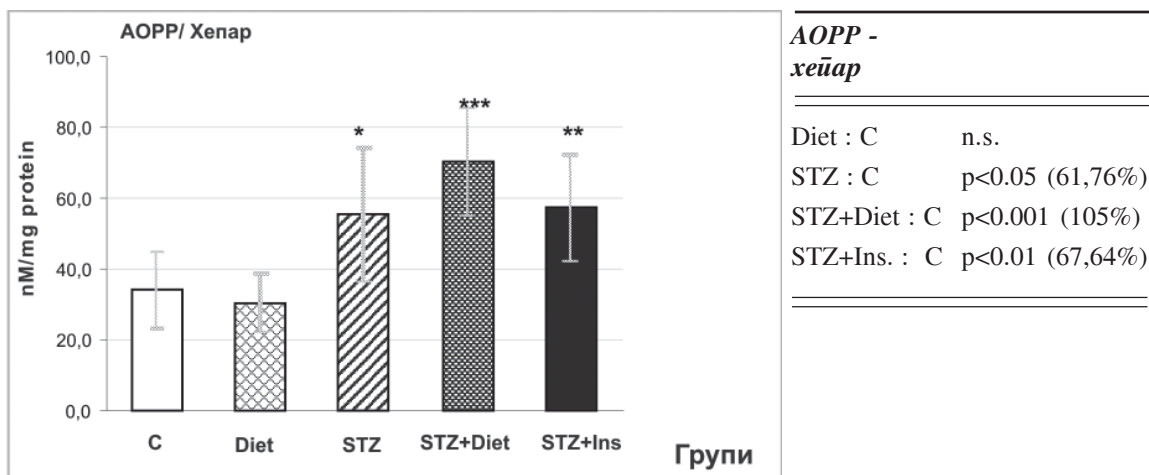
Графикон 1. Количество на ензими кои учествуваат во антиоксидативната заштита (SOD, TGSH, GSSG-Red) (* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$)



Табела 2. Ензими кои учествуваат во антиоксидативната заштита

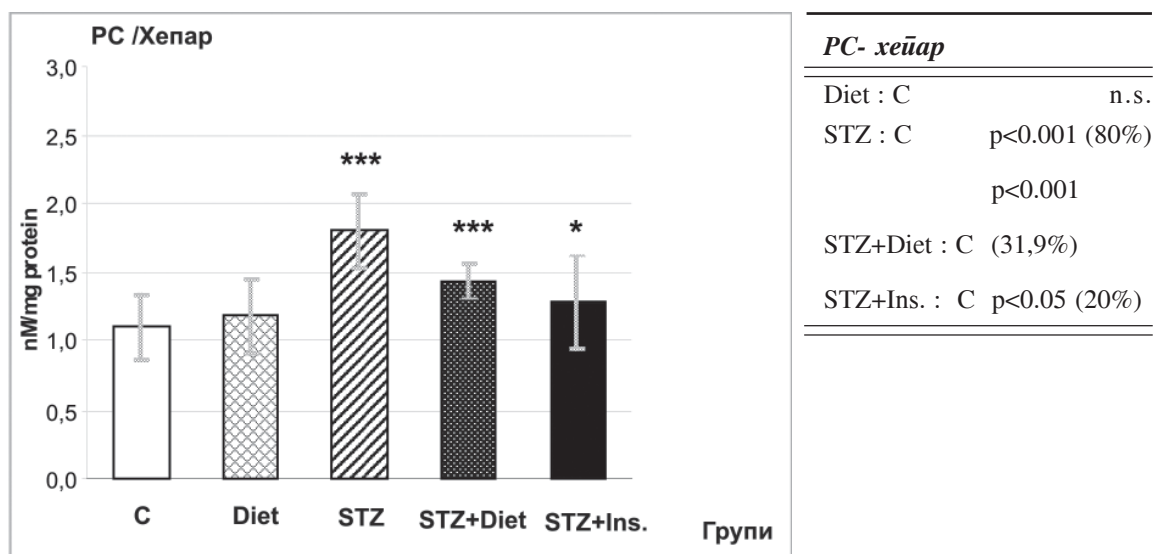
Хепар	GSSG-red (nM NADPH.min ⁻¹ mg ⁻¹)	SOD (U/mg)	GSH (nM/mg)
Diet.:C	n.s.	n.s.	n.s.
STZ:C	p<0.05(177%)	p<0.001(-65.67%)	p<0.001(-77.21%)
STZ+Diet.:C	p<0.05 (139%)	p<0,05 (-38.17%)	p<0.05 (-23,76%)
STZ+Ins.:C	p<0.05 (177%)	p<0,01(-51,48%)	p<0.01 (-45,34%)

Графикон 2. Сигнификантни промени во концентрацијата на оксидативно модифицираните протеински молекули во компарација со контролната група животни (C) (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$)



Добиените резултати за AOPP продукцијата во хепар кај стаорците од групата STZ+Diet. покажаа сигнификантно зголемување ($p < 0.001, 105\%$) во однос на добиените резултати од контролната група. Сигнификантни резултати покажаа и стаорците од групите STZ+Ins., (67.64%) и STZ (67.76%), кај кој имаме $p < 0.01$ и $p < 0.05$ соодветно. Гореприкажаните вредности за концентрацијата на AOPP треба да се помножат со 10nM/mg за да се добијат вистинските концентрации.

Графикон 3. Сигнификантни промени во вредностите за продукција на карбонилни соединенија во компарација со контролната група животни (C) (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$)



Добиените вредности за продукција на карбонилни соединенија во групите под експериментален третман покажаа високо сигнификантна разлика во однос на вредностите добиени од контролната група (STZ, STZ+Diet: C, $p < 0.001$) или 80% кај STZ и 31.9% кај STZ+Diet.. Умерено сигнификантна разлика во однос на контролната група даде групата STZ+Ins. (20%). Кај животните кој беа под третман со диеталната храна нема забележителна разлика во однос на контролната група животни.

ЗАКЛУЧОК

Врз основа на добиените резултати за влијанието на диеталната исхрана (Purina Veterinars Diets Colitis Canine Formula DCo), кај стаорци со индуциран diabetes mellitus, следејќи ги маркерите на оксидативен стрес, во нашето истражување може да се изведат следните заклучоци.

1. Секојдневната клиничка опсервација, за време на третманот со STZ и диеталната храна забележани се карактеристични знаци на diabetes mellitus, како накострешено крзно, зголемено уринирање, губење на телесната тежина и катаракта.
2. Диеталниот третман кај гликемичните животните, покажа висока зависност на телесната тежина со времетраењето на експериментот; (животните третирани со STZ ја намалија својата тежина за разлика од нормогликемичните животни).
3. За време траење на експериментот се забележува прогресивно, значајно зголемување во концентрацијата на глукозата, кај сите групи освен контролна и групата со диетална храна кое е најизразено во последната недела.
4. Диеталниот третман кај животните, предизвика пораст во вредностите на клучните маркери на оксидативниот инсулт: 1. вредноста на оксидираните соединенија и 2. карбонилните соединенија.
5. Диеталниот третман кај гликемичните животни предизвика намалена анти-оксидативна заштита отчитана преку намалената каталитичка активност на SOD и вкупниот глутатион, напоредно со зголемувањето на GSSG-Red која учествува во регенерацијата на глутатионот.
6. Постои тесна врска помеѓу хипергликемија, оксидативен стрес и диабетични компликации што е потврдено со овој труд.

NUTRITIONAL EFFECTS OF ANTIDIABETIC DIETS ON CONCENTRATION OF TISSUE ANTIOXIDANT ON RATS WITH INDUCED DIABETES MELLITUS

Crceva - Nikolovska Radmila, Sekulovski Pavle, Prodanov Risto

Food Institute, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

e-mail: rnikolovska@fym.ukim.edu.mk

ABSTRACT

Oxidative stress is currently suggested to play a pathogenesis in the development of diabetes mellitus. There are many reports indicating the changes in parameters of oxidative stress in diabetes mellitus. The role of dietary management in diabetes mellitus is to provide a proper balance of total nutrients while meeting the special dietary needs of the patient. Complex carbohydrates and dietary fiber help to delay the absorption of glucose from the intestinal tract and minimize postprandial fluctuation of glucose. The present study was designated to evaluate the effect of special antidiabetic diet treatment upon oxidative stress parameters in the initial stages of the development of diabetes. The findings of the present study suggest that special diet formula useful for prevention of progressive hyperglycaemia in aged provoked diabetes in dogs could not restore the imbalance of cellular defence mechanism provoked by streptozotocin. Soluble fiber in the diet may also prolong gastrointestinal transit time, allow greater water absorption, and promote the production of short chain fatty acids which nourish the intestinal mucosa.

Key words: diet food, oxidative stress, liver, hyperglycemia, diabetic rats, diabetes mellitus.

ЛИТЕРАТУРА

1. J.Procos. Annette Schubert and B.J. Briel, Changes in the levels of plasma electrolytes and glucose in severe artificially induced acidoses in merino sheep
2. Kaneko & Rhode, Diabetes mellitus in cow
3. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1999): Free radicals in biology and medicine. Oxford Science Publications, Oxford.
4. Halliwell B. And Gutteridge (1985), The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases, Mol. Aspects Med., 8
5. Djuksova fiziologija domacih zivotinja, (1975) Melvin J. Swenson
6. Akbar-zadeh A., Norou-zian D., -Mehrabi M.R., Jamshidi S., Farhangi A., Allah Verdi, Mofidian
7. Baynes, J.W. (1991): Role of oxidative stress in the development of complications in diabetes. Diabetes. 40:405-412.
8. Oberley, L.W., (1988): Free radicals and diabetes. Free Radical Biol Med., 5:113-124.
9. Rand, J.S., Fleeman, L.K., Farrow, H.A., Appleton, D.J. Lederer, R. (2004): Canine and Feline Diabetes mellitus: Nature or Nurture? Amer.Soc. for Nutrition. Scien. 2072S-2080S.
10. Rand, J.S., Fleeman, L.K., Farrow, H.A., Appleton, D.J. Lederer, R. (2004): Canine and Feline Diabetes mellitus: Nature or Nurture? Amer.Soc. for Nutrition. Scien. 2072S-2080S

