

Влияние молозива коров на динамику метаболических нарушений при экспериментальном сахарном диабете

С.Е. ГАЛЬЧЕНКО, И.В. БЕЛОЧКИНА, Е.С. ГАЛЬЧЕНКО

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Bovine Colostrum on the Dynamics of Metabolic Disorders at Experimental Diabetes mellitus

GALCHENKO S.E., BELOCHKINA I.V., GALCHENKO E.S.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Kharkov

Сахарный диабет (СД) - одно из наиболее полисиндромных заболеваний, характеризуется тяжелыми осложнениями, приводящими к инвалидности и смертности больных. Ежегодно число больных СД увеличивается на 6-10%. При данном заболевании инсулиновая недостаточность детерминирует обменные и гормональные нарушения, включая развитие специфических диабетических осложнений, являющихся следствием гипергликемии, окислительного стресса, связанного с нарушением углеводного обмена, и т.д. [5].

Проблема предупреждения СД и снижения его проявлений требует поиска новых средств лечения, а также средств, которые могли бы оказывать профилактическое и протекторное действие.

Лиофилизированное молозиво коров - препарат, используемый для профилактики СД, компенсации его проявлений и нормализации метаболизма клеток, тканей и всего организма. В молозиве содержатся биологически активные вещества, которые нормализуют иммунный ответ организма, в том числе и при аутоиммунных заболеваниях [6]. Такие ростовые гормоны, находящиеся в нем, как гонадотропин, эпидермальный ростовой фактор, фактор роста фибробластов и т.д. принимают участие в построении и регенерации гладкой мускулатуры, костей, нервной и хрящевой ткани, регуляции уровня сахара в крови [8]. Лактоферрин, входящий в состав молозива, участвует в регулировании пролиферации клеток, иммунного ответа, является эффективным хелатором железа и антиоксидантом [2, 7], может препятствовать развитию нарушений, связанных с активацией перекисных процессов при СД.

Целью данной работы было изучение эффективности лиофилизированного молозива коров при экспериментальном СД.

В работе использованы половозрелые крысы-самцы линии Вистар массой 180-230 г. После предварительного 24 - часового голодания при свободном доступе к воде крысам вводили аллоксан - тригидрат подкожно однократно в дозе 130 мг/кг веса животного. До введения аллоксана часть крыс в течение месяца ежедневно получала молозиво коров (по 100 мг сухого вещества каждая) с показателями качества, приведенными в [4]. Эта же группа крыс продолжала получать молозиво на протяжении всего эксперимента. Лиофилизированное молозиво регидратировали и вводили перорально с помощью зонда. Степень выраженности гликемии и интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме крови и гомогенате печени крыс изучали на

Diabetes mellitus (DM) is one of polysyndrome diseases, characterised by severe complications, resulting in the patients' disability and death. Every year the number of DM patients increases by 6-10%. Insulin insufficiency at this disease determines metabolic and hormonal impairments, including the development of specific diabetic complications, caused by hyperglycaemia, oxidative stress, related to the impairment of hydrogen metabolism etc. [5]

The problem for DM preventing and reducing its manifestations requires the search of new treatment means, as well as ones, which could manifest prophylactic and protective effect.

Lyophilised bovine colostrum is the preparation, used for DM prophylactics, compensation of its manifestations and normalisation of metabolism in cells, tissues and the whole organism. Colostrum comprises biologically active substances, normalising immune response of an organism, as well as at autoimmune diseases [6]. Such growth hormones, being in colostrum as gonadotropin, epidermal growth factor, fibroblast growth factor etc, participate in the structure and regeneration of smooth muscles, bones, nerve and cartilage tissue, regulation of sugar level in blood [8]. Lactoferrin as a part of colostrum, participates in the regulation of cell proliferation, immune response, and is an efficient iron chelator and antioxidant [2, 7] and can prevent the development of disorders, related to the activation of peroxidative processes at DM.

The aim of the work was to study the efficacy of lyophilized bovine colostrum at experimental DM.

In the work we have used 180-230g⁷ mature Wistar male-rats. Following the preliminary 24-hrs' starvation with a free access to water the rats were subjected to a single subcutaneous injection of alloxan-trihydrate in the dose of 130 mg/kg of an animal's weight. Before an alloxan injection colostrum was given to one group of rats (100 mg of a dry substance for each animal) with quality indices, presented in the paper [4].

The same group of rats continued feeding with colostrum during the whole experiment. Lyophilised colostrum was rehydrated and perorally injected by probe. Manifestation degree of glycaemia and intensity of lipid peroxidation (LPO) in blood plasma and liver homogenate were studied to the 7, 15, 30th days. The blood was taken from a tail vein. Rats were decapitated, preliminarily treated with ether. Glucose level was determined in blood serum by chromoxygenase method [3]. LPO intensity was calculated on an initial, spontaneous, Fe²⁺ - and ascorbate-induced levels of TBA-active products (TBAAP) in blood

7-е, 15-е и 30-е сутки. Кровь брали из хвостовой вены. Крыс умерщвляли декапитацией, предварительно усыпив их эфиром. Уровень глюкозы определяли в сыворотке крови хромооксигеназным методом [3]. Интенсивность ПОЛ рассчитывали по начальному, спонтанному, Fe²⁺- и аскорбат-индуцированному уровню ТБК-активных продуктов (ТБКАП) в плазме крови и гомогенате печени [1]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

При моделировании СД у крыс было установлено, что уровень глюкозы в крови у животных с СД, не получавших молозива, на 7-е сутки превышал норму в 2,3, а на 15-е - в 3,5 раза, к 30-м суткам он несколько снижался, однако оставался значительно выше нормы. У животных с СД, которые получали молозиво в течение месяца до введения аллоксана, уровень гликемии был ниже, чем у животных с СД, не получавших его, и составил на 7-е сутки 170% от нормы.

В крови крыс экспериментальной группы концентрация глюкозы увеличивалась к 15-м суткам, как и у крыс, не получавших молозива, однако к 30-м суткам отмечалось ее снижение до 190% по сравнению с 280% нормы у крыс, которым не вводили молозиво. При исследовании динамики глюкозы в крови этих же животных при глюкозной нагрузке получены аналогичные результаты.

Известно, что СД сопровождается активацией перекисных процессов и накоплением в тканях и крови конечных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Максимальная концентрация ТБКАП наблюдается в крови крыс с СД, не получавших молозива, на 15-е сутки с некоторым снижением к 30-м суткам, однако их уровень остается достоверно выше ($p < 0,05$) контрольного значения. При предварительном применении молозива уровень ТБКАП на 7-е сутки хотя и превышает контрольное значение, но достоверно ниже ($p < 0,05$) уровня, характерного для крыс, не получавших его. К 15-м суткам этот показатель увеличивается, но к 30-м возвращается к значению, характерному для контрольных животных. Повышенный уровень ПОЛ при СД характерен не только для плазмы крови, но и для других тканей, в частности для печени (таблица).

Начальный, спонтанный и Fe²⁺-индуцированный уровень ТБКАП в гомогенате печени крыс, не получавших молозива, во все сроки наблюдения превышает контрольный уровень в 1,4 - 1,6 раза. Аскорбат-индуцированный уровень на 7-е сутки превышает контроль в 2,2 раза, а к 30-м суткам несколько снижается и превышение составляет 1,9 раза. Предварительное введение подопытным животным

plasm and liver homogenate [1]. Statistical processing of the results obtained was performed using Student's t-criterion.

When modeled DM in rats it was established that glucose level in the blood of animals with DM, which have not been treated with colostrum, to the 7th day exceeded the norm by 2.3 times, to the 15th day this index made 3.5 times, and by the 30th day it slightly decreased, however it remained significantly lower than a norm. In animals with DM, which have been treated with colostrum during 1 month before an alloxan injection, the glycaemia level was lower, than in animals with DM without the treatment with colostrum and made 170% of the norm to the 7th day.

In rats' blood of experimental group glucose concentration has increased to the 15th day, as well as in animals, which have not been treated with colostrum, however to the 30th day there was observed its reduction down to 190% comparing to normal 280% in rats without the colostrum introduction. When studying the glucose dynamics in blood of these animals with glucose loading we have obtained the same results.

It is known that DM is accompanied by the activation of peroxidative processes and accumulation in tissues and blood of final LPO products, reacting with thiobarbituric acid. The maximum TBA concentration is seen in rats' blood with DM without the colostrum treatment to the 15th day with a slight reduction to the 30th day, however their level has remained significantly higher ($p < 0,05$) than the control values. At preliminary colostrum application the TBAAPs level to the 7th day is higher than the control values, but it is considerably lower ($p < 0,05$) than the level, characteristic for the rats without the treatment by colostrum. To the 15th day this index increases, but to the 30th day it returns to the value, characteristic for the control animals. An increased LPO level during DM is characteristic not only for blood plasm, but for other tissues as well, in particular, liver (table).

Уровень ТБКАП в печени крыс, (нмоль/г ткани)
The level of TBAAP in rat liver, (nM/g of tissue)

Уровень ТБКАП TBAAP level	Срок наблюдения, сут Terms of observation, days	Условия эксперимента Experiment conditions		
		Контроль The control	СД DM	СД+молозиво DM+colostrum
Начальный Initial	7	3,9±0,3	5,4±0,4	4,2±0,3 ^{1,2}
	30	3,8±0,2	5,2±0,3	4,2±0,3 ^{1,2}
Спонтанный Spontaneous	7	4,7±0,3	6,7±0,5	5,9±0,3 ^{1,2}
	30	4,4±0,2	6,5±0,4	5,3±0,4 ²
Fe ²⁺ -индуцированный Fe ²⁺ - induced	7	5,4±0,4	8,7±0,7	7,3±0,5 ²
	30	5,8±0,5	8,1±0,4	6,9±0,5 ^{1,2}
Аскорбат-индуцированный Ascorbate-induced	7	9,2±0,6	20,1±1,8	15,1±1,3 ²
	30	9,4±0,7	18,4±1,1	12,2±1,0 ²

Примечания:

¹ – различия недостоверны по сравнению с контролем, $p > 0,05$;

² – различия достоверны по сравнению с тем же сроком длительности заболевания СД, $p < 0,05$

Notes:

¹ – differences are statistically different comparing to the control, $p > 0,05$

² – differences are statistically true comparing to the same term of the DM pathology duration, $p < 0,05$

молозива оказывает протекторный эффект, уменьшая активацию ПОЛ в печени, и в этом случае уровень ТБКАП составляет 0,7-0,9 от величины соответствующих показателей животных, которые не получали молозива. При этом начальный уровень ТБКАП не отличается от контроля ($p < 0,05$) и на 7-е, и 30-е сутки наблюдения.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод, что лиофилизированное молозиво коров обладает защитным эффектом при экспериментальном СД и снижает уровень метаболических нарушений в динамике развития и протекания данной патологии.

Литература

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело.– 1988.– №11.– С. 41-43.
2. Белизи С., Назарова И.А., Климова И.А. и др. Антиоксидантные свойства лактоферрина из женского молока // Бюл. эксперим. биол. и мед.– 1999.– №5.– С. 523-525.
3. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова.– М.: Медицина, 1987.– С. 230-234.
4. Сандомирский Б.П., Гальченко С.Е., Гальченко Е.С. Влияние температуры и времени хранения на качество молозива коров // Пробл. криобиологии.– 2001.– №1.– С. 60-64.
5. Экспериментальное моделирование сахарного диабета для изучения специфического эффекта новых антидиабетических веществ. Метод. рекомендации / Сост. В.В. Полторак и др.– Харьков: НИИ эндокринологии и химии гормонов, 1991.– 20 с.
6. Klobasa F., Goel M. Comparison of freezing and lyophilizing for preservation of colostrum as a source of immunoglobulins for calves // J. Anim. Sci.– 1998.– №76.– P. 923-926.
7. Lonnerdal B., Iyers S. Lactoferrin: molecular structure and biological function // Annu. Rev. Nutr.– 1995.– №5.– P. 93-100.
8. Playford R., Macdonald C., Johnson W. Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders // Am. J. Clin. Nutr.– 2000.– №72.– P. 5-14.

Поступило 26.03.2002

An initial, spontaneous and Fe^{2+} -induced TBAAPs level in liver homogenate of non-treated with colostrum rats increases the control level by 1.4-1.6 times at all the observation terms. Ascorbate-induced level increases the control by 2.2 times to the 7th day, and to the 30th day it decreases and the exceeding makes 1.9 times. Preliminary injection of colostrum to experimental animals shows a protective effect, reducing LPO activation in liver, and in this case TBAAPs level is 0.7-0.9 of the value of corresponding indices in non-treated with colostrum animals. Thereat an initial level of TBAAPs did not differ from the control ($p < 0,05$) to the 7th and 30th days of observation as well.

Thus, obtained data allow to conclude that lyophilised bovine colostrum possesses a protective effect during experimental DM and reduces the level of metabolic failures in the dynamics of development and course of given pathology.

References

1. Andreeva L.I., Kozhemyakin L.A., Kishkun A.A. Modification of the method for lipid peroxides determination in a dough with thiobarbituric acid // Lab. delo.– 1988.– N11.– P. 41-43.
2. Belizi S., Nazarova I.A., Klimova I.A. et al. Antioxidative properties of lactoferrin derived from women's milk // Bull. Experim. Biol. i Med.– 1999.– N5.– P. 523-525.
3. Laboratory methods for investigation in clinics/ Ed. by Menshikov V.V.– M.:Medicine, 1987.– P. 230-234.
4. Sandomirsky B.P., Galchenko S.E., Galchenko E.S. Effect of the temperature and term of storage on the quality of bovine colostrum // Problems of Cryobiology.– 2001.– N1.– P. 60-64.
5. Experimental modeling of Diabetes mellitus for studying specific effect of new antidiabetic substances. Method. recommendations / Poltorak V.V. et al.– Kharkov: R&D Institute of Endocrinology and Chemistry of Hormones, 1991.– 20p.
6. Klobasa F., Goel M. Comparison of freezing and lyophilizing for preservation of colostrum as a source of immunoglobulins for calves // J. Anim. Sci.– 1998.– №76.– P. 923-926.
7. Lonnerdal B., Iyers S. Lactoferrin: molecular structure and biological function // Annu. Rev. Nutr.– 1995.– №5.– P. 93-100.
8. Playford R., Macdonald C., Johnson W. Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders // Am. J. Clin. Nutr.– 2000.– №72.– P. 5-14.

Accepted in 26.03.2002