

◆ ОБЗОРЫ

© МЕЙРАМОВА А. Г., 2003

УДК 616.379-008.64-092.9

А. Г. Мейрамова

ДИАБЕТОГЕННЫЕ ЦИНКСВЯЗЫВАЮЩИЕ β -ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

Лаборатория диабетологических исследований. Караганда

Более 60 лет тому назад Д. Скотт и А. Фишер выделили инсулин из поджелудочной железы в виде цинк-инсулинового комплекса, предположив, что ионы цинка обуславливают физиологическую активность инсулина [15]. Интерес к этой проблеме возрос после того, как эти авторы сообщили в 1938 г., что в поджелудочной железе умерших больных диабетом общее количество цинка не превышало 50% от его содержания в поджелудочной железе здоровых лиц [16], обнаружив при этом 0,07 мг цинка на 1 кг массы поджелудочной железы у больных диабетом по сравнению с 0,14 мг/кг у здоровых лиц. Аналогичные результаты получили J. Eisebrandt и соавт. [17]. Значительные количества цинка были выявлены в поджелудочной железе у здоровых лиц, многих птиц, млекопитающих и земноводных [18—20, 24]. В 1942—1943 гг. К. Окамото сообщил о наличии в β -клетках большого количества ионов цинка [22, 23]. Согласно существующим представлениям, цинк принимает участие в процессах депонирования инсулина в β -клетках [64]. Отмечена пропорциональная зависимость между содержанием цинка в β -клетках и количеством инсулина в их цитоплазме. При уменьшении количества депонированного инсулина снижается и количество цинка в β -клетках [26]. Известно, что цинк участвует в процессах образования гексамера проинсулина, а также способствует кристаллизации инсулина [65].

Содержание цинка в β -клетках заметно уменьшается при экспериментальном диабете независимо от того, какими причинами он был вызван [24—28]. Цинк способен накапливаться в ткани поджелудочной железы. Введение его в организм сопровождается увеличением его общего содержания в поджелудочной железе в 4—20 раз [29]. Только 0,3% от введенного в организм цинка способно аккумулироваться в поджелудочной железе крыс с аллоксановым диабетом, тогда как у интактных животных эта величина составляет 2,6% [30]. К. Окамото и Н. Kawanishi подтвердили с помощью метода электронной гистохимии, что в β -клетках ионы цинка локализуются в β -гранулах, представляющих собой депонированную форму инсулина [31, 32], а S. Yokoh и соавт. [33] показали, что цинк концентрируется в центральной части гранул, на периферии и частично в оболочке β -гранул.

Ионы цинка, содержащиеся в цитоплазме β -клеток, имеют координационное число, равное 4 и 6, и способны вступать во взаимодействия с рядом веществ, обладающих способностью образовывать с ними не обычные соли на основе валентных свя-

зей, а комплексные соединения, в которых атом цинка прочно закрепляется между несколькими соседними атомами, образуя хелатные соединения посредством более прочных ковалентных гибридных связей [80]. По способности к комплексообразованию цинк значительно превосходит металлы главной группы.

Диабетогенные цинксвязывающие соединения и возможная роль процессов комплексообразования с цинком в патогенезе диабета человека

Дитизон. Дитизон (дифенилтиокарбазон) является одним из наиболее сильных комплексообразующих соединений. Он способен образовывать окрашенные в различные оттенки красного цвета соединения с 18 металлами. Особую тропность дитизон проявляет по отношению к ионам цинка, с которым быстро связывается, образуя комплекс состава 2:1. Дитизон в организме не образуется и возможности поступления его извне весьма ограничены, поскольку реально с ним могут сталкиваться в отдельных случаях лишь химики-аналитики.

В 1949 г. К. Окамото впервые получил экспериментальный диабет путем введения дитизона кроликам [34]. Позднее Н. Maske [35] предложил прижизненный метод выявления ионов цинка в β -клетках, основанный на способности дитизона образовывать пурпурные гранулы дитизоната цинка после инъекции раствора дитизона. Было отмечено, что диабет, вызываемый дитизоном, сопровождается образованием в цитоплазме β -клеток гранул дитизоната цинка. В случае, если гранулы по каким-либо причинам не образовывались, диабет у животных никогда не развивался. С помощью этой методики цинк был обнаружен в островках кроликов, человека, крыс, свиней, мышей, собак, лошадей, голубей, лягушек и некоторых видов рыб, исключая морских свинок, β -клетки которых не содержат цинка [36—41]. Как было установлено позднее, дитизон не способен вызывать формирование в β -клетках поджелудочной железы морских свинок гранул дитизоната цинка и соответственно диабет у них не развивается [42]. С помощью методов спектрального анализа было доказано, что спектр поглощения пурпурных гранул, образующихся в β -клетках после введения дитизона, идентичен спектру поглощения синтетического дитизоната цинка [10].

К. Окамото предположил, что механизмы диабетогенного действия дитизона заключаются в его способности образовывать в β -клетках комплексные соли с ионами цинка. Это предположение получило в последующем многочисленные подтверждения. В первую очередь было подтверждено, что после введения дитизона диабет развивается только в том случае, если в β -клетках образуются ярко-красные гранулы дитизоната цинка, которые плотно заполняют цитоплазму клетки. Исследование в динамике процессов взаимодействия островкового цинка с дитизоном показало, что через 30 мин количество гранул в β -клетках начинает постепенно снижаться. Через 1 ч у мышей и через 1,5–2 ч у кроликов и других животных зернистость из островков полностью исчезает. Между тем при выключении кровообращения процесс исчезновения комплекса цинк—дитизон из цитоплазмы β -клеток значительно замедляется и через 3 ч в островках еще сохраняется 50–60% образовавшегося после введения дитизона комплекса цинк—дитизон [9, 10]. Принципиально важным представляется ответ на вопрос, вымывается ли связанный с дитизоном цинк из островков или этот комплекс в течение 1,5–2 ч распадается и цинк, освобождаясь от связи с дитизоном, остается в островках, будучи способным вновь вступать в реакцию с дитизоном с повторным образованием комплекса цинк—дитизон?

Было установлено, что при однократном введении диабетогенной дозы дитизона связывается практически все количество реакционноспособного цинка, содержащегося в β -клетках. В опытах на замороженных срезах интактных животных это было подтверждено следующим образом: сразу после образования в β -клетках комплекса цинк—дитизон последний экстрагировался с помощью хлороформа или четыреххлористого углерода, после чего обнаруживалась отрицательная гистохимическая люминесцентная реакция на цинк в β -клетках. Это свидетельствовало об отсутствии в цитоплазме β -клеток ионов свободного, непрореагировавшего с дитизоном цинка, поскольку в связанном виде он был экстрагирован из клеток. В случае, если данный комплекс после его формирования был бы элиминирован из β -клеток, реакционноспособный цинк в их цитоплазме также не обнаруживался бы. Между тем окрашенный в ярко-красный цвет комплекс цинк—дитизон из β -клеток постепенно исчезал, а содержание свободных ионов цинка в β -клетках при этом также постепенно возрастало, достигая максимума через 1,5–2 ч, т. е. к моменту полного исчезновения из цитоплазмы β -клеток комплекса цинк—дитизон. Это подтверждалось с помощью строгоспецифичной люминесцентной реакции на цинк, выявлявшей к моменту полного исчезновения комплекса цинка с дитизоном обычные количества ионов этого металла в β -клетках, который вновь вступал в реакцию с дитизоном. Таким образом, было подтверждено, что связывающийся с дитизоном островковый цинк к концу 2-го часа в результате расщепления хелата полностью освобождается, готов вновь взаимодействовать с ним и взаимодействует повторно как минимум 3–4 раза [9, 10].

Исследование результатов воздействия на клетку комплекса цинк—дитизон позволило установить, что первые изменения в виде появляющихся небольших очагов опустошения цитоплазмы β -клеток начинают развиваться уже через 5 мин после образования комплекса в клетке. Более детальное выявление начальных изменений с помощью метода электронной микроскопии позволило установить, что в первую очередь повреждаются оболочки β -гранул, которые вслед за этим разрушаются, давая начало формированию небольших очагов опустошения цитоплазмы. Первоначально формируются единичные очаги, каждый из них возникает на месте 2–4 разрушенных гранул [1, 3, 12]. Через 15–20 мин размеры этих зон существенно увеличиваются, достигая 30–40% от общей поверхности среза β -клетки. Наконец, через 1–2 ч практически весь клеточный матрикс разрушается, а зона опустошения, в которой сохранились небольшие обрывки цитоплазмы с поврежденными органоидами, занимает большую часть клетки [1, 12].

Цинк содержится также в сетчатке глаза, и введение дитизона кроликам ведет к образованию гранул комплекса цинк—дитизон в сетчатой оболочке, что часто сопровождается развитием слепоты у животных, причем последняя возникает практически одновременно с возникновением диабета, не являясь, вероятно, его следствием [3].

Таким образом, в принципиальном плане была подтверждена цинковая теория патогенеза экспериментального диабета, вызываемого химически-комплексобразующими соединениями, предложенная в 1959 г. К. Окамото. Между тем эта теория не объясняет конкретных механизмов развития диабета в результате образования комплексов диабетогенного вещества с цинком. Позднее были выдвинуты предположения, согласно которым диабетогенное вещество связывает в β -клетках цинк активных центров цинксодержащих ферментов, приводя к их инактивации, что в последующем в конечном итоге могло бы служить одной из причин развития диабета. Однако это предположение не получило в дальнейшем подтверждения. Известно, кроме того [80], что металлсодержащие ферменты обычно удерживают катионы металла очень прочно, так что в большинстве случаев металл не удается вывести из молекулы фермента и даже очень сильные комплексообразователи, проникая в клетки, не способны с ним связываться. Предполагалось также, что цинк, связываясь с диабетогенным веществом, затем в виде комплекса элиминирует из β -клеток. И эта гипотеза в последующем не подтвердилась, так как было доказано, что в течение 1–2 ч диабетогенный комплекс из β -клеток не элиминирует, а полностью распадается в них, причем цинк остается в цитоплазме β -клеток. Более того, позднее было установлено, что практически полная мобилизация цинка из β -клеток, осуществляемая на протяжении длительного времени с помощью сахаропонижающих препаратов, не сопровождается какими-либо изменениями со стороны β -клеток [2].

Производные 8-оксихинолина. В 1947 г. А. Albert сообщил, что 8-оксихинолин, который в обычных условиях является нетоксичным веществом, в при-

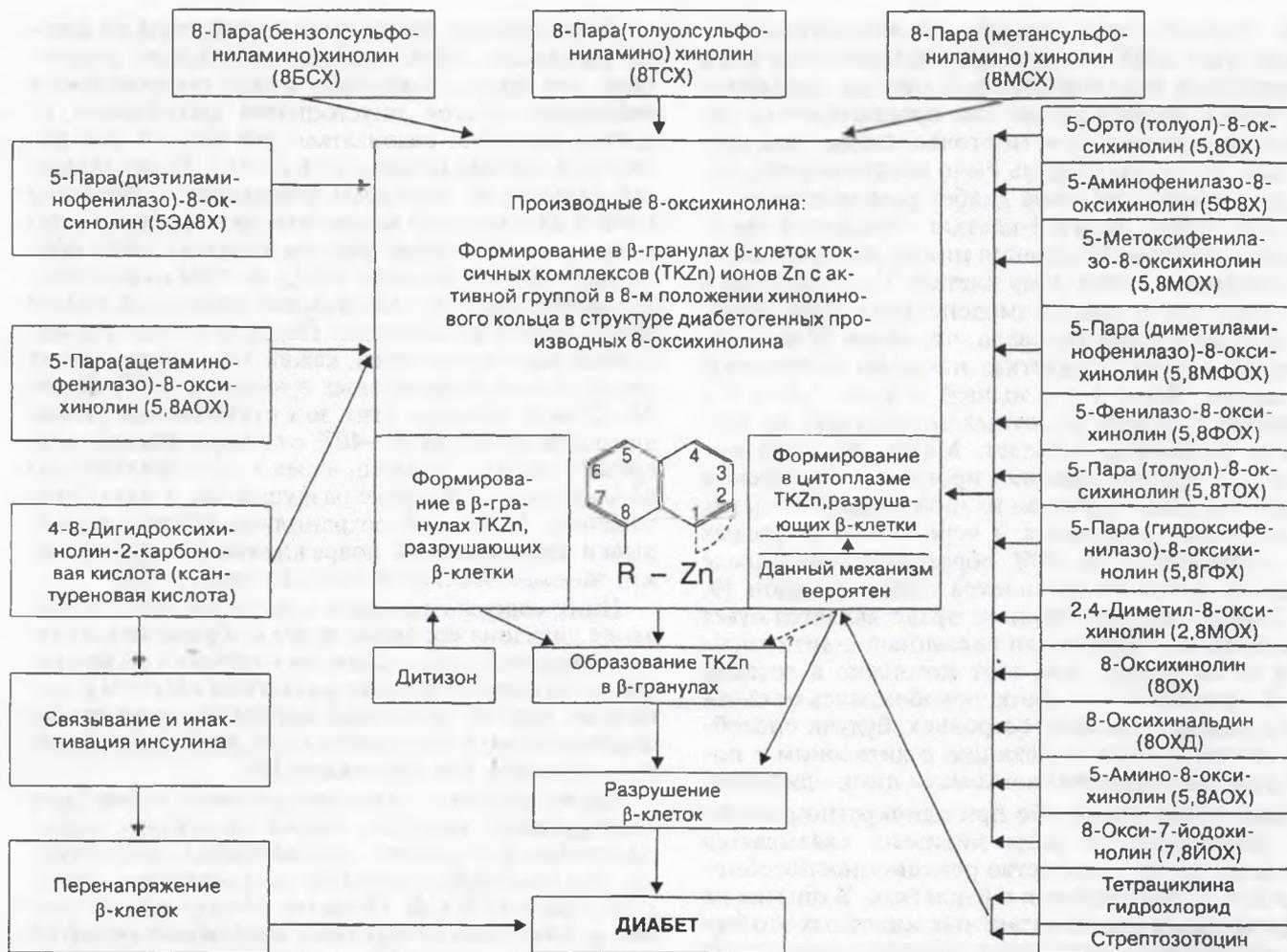


Рис. 1. Производные 8-оксихинолина, вызывающие экспериментальный диабет.

сутствии ионов металлов и в первую очередь цинка становится токсичным для клеток тканей. Было установлено, что это явление обусловлено тем, что в присутствии ионов металлов 8-оксихинолин формирует с ними комплексные соединения, которые и оказывают неблагоприятное влияние [80]. Изучая токсичность 8-оксихинолина в отношении β -клеток, К. Окамото [25, 36] установил, что введение его животным сопровождается развитием у них экспериментального диабета. Развивая исследования в этом направлении, К. Окамото обнаружил, что 18 производных этого соединения и 8-оксихинальдина способны при однократной инъекции вызывать быстрое развитие тяжелого диабета у экспериментальных животных [72]. Было отмечено, что все эти вещества имеют в положении 8 хинолинового кольца активную группу OH^- либо другие, содержащие атомы серы или кислорода. Шесть изомеров 8-оксихинолина, не имевших в этом положении такой группы, не были способны образовывать комплексные соли с цинком и диабетогенными свойствами не обладали [48]. Экспериментальный оксихинолиновый диабет способны вызывать следующие производные 8-оксихинолина: 8-пара(толуолсульфониламино)хинолин, 8-пара(бензолсульфониламино)хинолин, 8-пара(метансульфо-

ниламино)хинолин, 5-пара(ацетаминофенилалазо)-8-оксихинолин, 8-гидроксихинальдин, 5-амино-8-гидроксихинолин и др. (рис. 1). Введение этих веществ в дозах 30–100 мг/кг сопровождается в течение 1–3 дней развитием тяжелого диабета с избирательным разрушением β -клеток, повышением уровня глюкозы крови до 15–30 ммоль/л и развитием ярко выраженных дегенеративных изменений в островках, типичных для картины экспериментального диабета [43–47]. Характерна динамика уровня глюкозы крови. Через некоторое время после инъекции наблюдается повышение ее уровня в крови, которое затем сменяется гипогликемией, что связывается с быстрым разрушением β -клеток и освобождением из них депонированного инсулина. Наконец, приблизительно через 1 сут устанавливается гипергликемия, имеющая окончательный характер.

Известно, что наиболее устойчивые комплексные соединения формируются в случае, если атом металла закрепляется между двумя атомами азота, серы или кислорода, входящих в состав молекулы комплексобразующего вещества. Дальнейшее изучение механизмов действия диабетогенных дериватов 8-оксихинолина показало, что только его производные, имеющие в положении 8 хинолино-

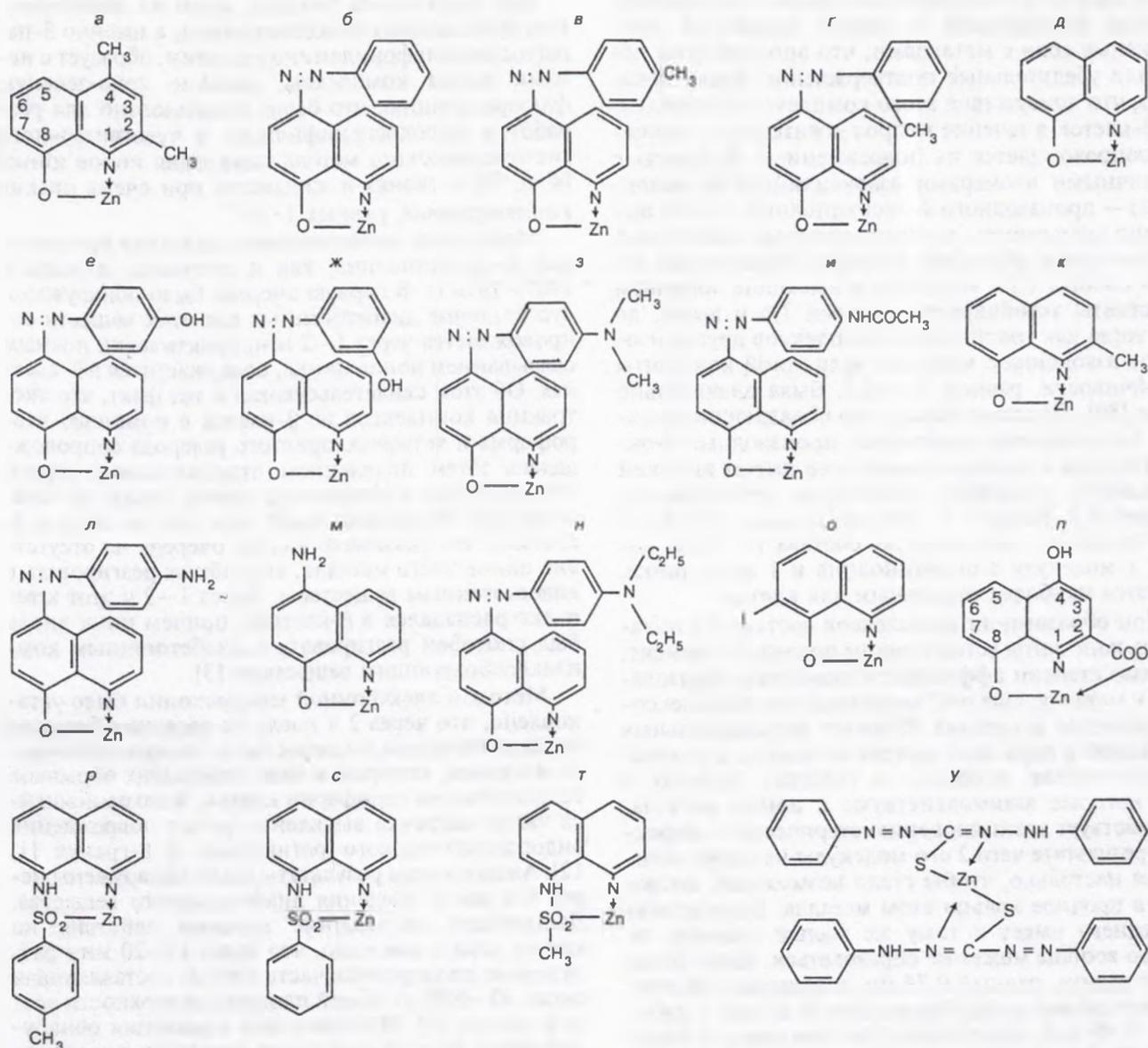


Рис. 2. Комплексные соли диabetогенных β -цитотоксических комплексообразующих веществ с ионами цинка.

а — 2,4 диметил-8-оксиксиналин, 35 мг/кг; б — 5-фенилазо-8-оксиксиналин, 20 мг/кг; в — 5-пара (толуол)-8-оксиксиналин, 20 мг/кг; г — 5-орто(толуол)-8-оксиксиналин, 40 мг/кг; д — 8-оксиксиналин, 50–60 мг/кг; е — 5-пара (гидроксифенилазо)-8-оксиксиналин, 20 мг/кг; ж — 5-мета (гидроксифенилазо)-8-оксиксиналин, 30 мг/кг; з — 5-пара (диметил-аминофенилазо)-8-оксиксиналин, 45 мг/кг; и — 5-пара (ацетамидофенилазо)-8-оксиксиналин, 5 мг/кг; к — 8-оксиксиналин, 10 мг/кг; л — 5-пара (аминофенилазо)-8-оксиксиналин, 10 мг/кг; м — 5-амино-8-оксиксиналин, 30 мг/кг; н — 5-пара (диэтиламинофенилазо)-8-оксиксиналин, 40 мг/кг; о — 8-окси-7-йодксиналин, 50–60 мг/кг; п — 4,8-дигидрокси-8-оксиксиналин-2-карбоновая кислота; р — 8-пара(толуолсульфониламино) ксиналин, 40–50 мг/кг; с — 8-пара(бензолсульфониламино) ксиналин, 30–100 мг/кг; т — 8-пара(метансульфониламино) ксиналин, 40–81 мг/кг; у — дифенилтиокарбазон, 45–50 мг/кг.

вого кольца гидроксильную или иную химическую группу, содержащую атомы S, N или O, способны вызывать диабет. Атом цинка при этом фиксируется между атомами S или O в положении 8 и атомами N или O в положениях 1 или 2. Более того, было показано, что экстракция этих групп из положения 8 сопровождалась полной утратой диabetогенных свойств диabetогенным веществом. Образование хелатных соединений атомами кислорода и азота комплексообразующих соединений с металлами происходит обычно в тех случаях, когда получают 5- или 6-членные кольца [80]; 5-членные кольца являются гораздо более устойчивыми. Если в образовании хелатов участвуют и атомы серы, то наиболее прочными являются 4-членные кольца. Известно, что производные 8-оксиксиналина образуют

4-членные кольца, в формировании которых в ряде случаев участвуют атомы серы. Электроны неподеленной пары смещаются от донора — атома азота в положение 1 к атому цинка (рис. 2).

Основываясь на данных, полученных А. Albert, G. Zentmyer предположил, что токсический эффект 8-оксиксиналина обусловлен его способностью связывать и выводить из β -клеток ионы металлов [49]. Позднее, однако, было показано, что длительная мобилизация цинк-инсулинового комплекса из β -клеток, вызываемая сульфаниламидными сахаропонижающими препаратами, не оказывала отрицательного влияния на состояние и функцию β -клеток, которая в полном объеме восстанавливалась после прекращения действия препарата. S. Rubbo и A. Albert [50] установили, что токсиче-

ский эффект 8-оксихинолина связан с его способностью формировать в клетке токсичные комплексы соли с металлами, что впоследствии получило убедительные подтверждения. Было показано, что присутствие этого комплекса в цитоплазме β -клеток в течение непродолжительного времени сопровождается их повреждением. В опытах с различными изомерами азаоксихинолина (азаоксина) — производного 8-оксихинолина — была выявлена зависимость, согласно которой наибольшей токсичностью обладают изомеры, образующие хелаты состава 1:1 с металлом и имеющие логарифм константы устойчивости, равный 7,6 и выше, до 9,4, тогда как токсичность комплексов других изомеров азаоксина с меньшей величиной константы устойчивости, равной 5,8—6,7, была значительно ниже [80]. Показано также, что обладающие высокой токсичностью комплексы производных 8-оксихинолина с ионами цинка тоже имеют высокий показатель логарифма константы устойчивости, равный 8,5. Позднее G. Weitzel и соавт. [55] было подтверждено, что комплекс состава 1:1, содержащий 1 молекулу 8-оксихинолина и 1 атом цинка, является наиболее токсичным для клеток.

При образовании комплексов состава 2:1 показатель константы устойчивости последних зависит, помимо степени аффинности комплексообразователя к металлу, еще от 2 характеристик комплексообразователя и металла. Наличие дополнительных радикалов в пара-положениях молекулы комплексообразователя, особенно в участках, близких к тем, которые взаимодействуют с ионом металла, способствует возникновению стерического эффекта, в результате чего 2 его молекулы не могут сблизиться настолько, чтобы стало возможным заключить в прочное кольцо атом металла. Если катион последнего имеет к тому же малый диаметр, то кольцо вообще может не образоваться. Атом цинка имеет радиус, равный 0,74 нм, и занимает среднее положение между бериллием (0,31 нм) и рубидием (1,49 нм), практически не отличаясь от никеля (0,72 нм) и кобальта (0,74 нм). Высокая прочность комплекса цинк—дитизон состава 2:1 обусловлена пространственной вытянутостью молекулы дитизона и расположением 2 фенольных колец на концах молекулы, что не мешает атомам серы и азота, расположенным в центре молекулы дитизона, вплотную сблизиться с атомом цинка. Кроме того, атом цинка заключен между двумя атомами азота и серы, по отношению к которой аффинность цинка очень высока и несколько превышает аффинность ионов этого металла к кислороду. Наконец, в сопряжении участвуют 2 молекулы дитизона, имеющие суммарно большое количество двойных связей. Что касается комплексов состава 1:1 с производными 8-оксихинолина, то их прочность обусловлена как большим количеством двойных связей в молекуле комплексообразователя, так и формированием 4-членного кольца. Кроме того, у производных 8-аренсульфониламинохинолинов в сопряжении участвует атом серы. Дополнительную прочность комплексу цинк—ксантуреновая кислота придает заключение атома цинка между двумя атомами кислорода.

Как выяснилось позднее, одно из диабетогенных производных 8-оксихинолина, а именно 8-пара(толуолсульфониламино)хинолин, образует с ионами цинка комплексы, дающие ярко-зеленую флюоресценцию, что было использовано для разработки высокоспецифичного и чувствительного гистохимического метода выявления ионов цинка [4, 6, 78] в тканях и жидкостях при очень низких концентрациях, равных $1 \cdot 10^{-8}$.

Механизмы диабетогенного действия производных 8-оксихинолина, как и дитизона, изучали в 1967—1976 гг. В первую очередь было обнаружено, что введение диабетогенных доз этих веществ сопровождается через 1—2 мин практически полным связыванием ионов цинка, содержащихся в β -клетках. Об этом свидетельствовал и тот факт, что экстракция комплексов из β -клеток с помощью хлороформа и четыреххлористого углерода сопровождалась затем появлением отрицательной, строго специфичной в отношении ионов цинка гистохимической люминесцентной реакции на цинк в β -клетках, что указывало в свою очередь на отсутствие ионов этого металла, способных реагировать с диабетогенным веществом. Через 1—2 ч этот комплекс распался в β -клетках, причем цинк вновь был способен реагировать с диабетогенным комплексообразующим веществом [3].

Методом электронной микроскопии было установлено, что через 2 ч после их введения большая часть цитоплазмы β -клеток была лишена клеточного матрикса, который в виде небольших обрывков сохраняется на периферии клетки. В сохранившейся части матрикса выявлены грубые повреждения эндоплазматического ретикула и β -гранул [1, 12]. Аналогичные результаты были обнаружены через 1 ч после введения диабетогенного вещества. Дальнейшее сокращение времени действия на клетки хелата показало, что через 15—20 мин разрушению подвергается часть клеток, составляющая около 30—50% от общей площади поверхности среза β -клеток [3]. Минимальные изменения обнаруживаются через 5 мин после введения: повреждается очень небольшая площадь клеточного матрикса, составляющая около 3—5% поверхности клетки, причем повреждения обнаруживались лишь со стороны β -гранул. Детальный анализ показал, что процесс разрушения β -клеток после введения диабетогенных веществ начинается с повреждения оболочек β -гранул, их последующего разрушения и формирования на месте 2—3 поврежденных гранул небольших очагов опустошения цитоплазмы. Сопоставляя эти результаты с данными о локализации ионов цинка в β -клетках, нельзя не обратить внимание на следующее совпадение: разрушение начинается с β -гранул, т. е. с разрушения ультраструктур, в которых концентрируется островковый цинк.

Сегодня считается подтвержденным, что в механизме диабетогенного действия 8-аренсульфониламинохинолинов и 5-арилазопроизводных 8-оксихинолина главное значение имеет образование комплексов с цинком состава 1:1 в β -гранулах с последующим их разрушением и развивающимися затем в течение первых 15—20 мин необратимыми деструктивными изменениями со стороны цито-

плазматических структур β -клеток. Что касается других диабетогенных производных 8-оксихинолина, очевидным является то, что избирательное повреждение β -клеток ими также связано с формированием в цитоплазме β -клеток токсичных комплексов с ионами цинка, однако вопрос о том, с каких структур начинается разрушение β -клеток применительно к данной группе хелаторов, пока никем не изучался.

Одним из производных 8-оксихинолина является 4,8-дигидротоксихинолин-2-карбоновая (ксантуруеновая) кислота [51], впервые выделенная в 1935 г. Известно, что она является продуктом нарушенного обмена триптофана и усиленно образуется в организме в условиях дефицита витамина B_6 и вызванного им угнетения синтеза пиридоксаль-5-фосфата, недостаток которого угнетает нормальный обмен триптофана по серотониновому и кинурениновому путям, переключая его на образование кинуреновой и ксантуруеновой кислот [52, 60], которые начинают обнаруживаться в моче. Усилению их образования способствует содержание животных на диете, обогащенной насыщенными жирными кислотами, казеином и триптофаном. Впервые ксантуруеновая была выявлена у крыс, содержащихся на диете, обогащенной триптофаном в условиях дефицита витамина B_6 . Она исчезала из мочи при добавлении к пище витамина B_6 [56, 61]. Позднее она была обнаружена в моче собак, человека и морских свинок [53, 62, 66]. У больных диабетом среднего и пожилого возраста в моче обнаруживается как ксантуруеновая, так и кинуреновая кислота [67, 68]. Дополнительное введение в организм пиридоксина сопровождается снижением уровня ксантуруеноурии, однако полной нормализации не происходит [67]. В экспериментальных условиях инъекция витамина B_6 сопровождается снижением уровня ксантуруеноурии до 2,03 мг/сут по сравнению с 8,42 мг/сут в контроле [14]. Повышенная ксантуруеноурия обнаруживается у беременных женщин. Введение 100 мг/кг а-триптофана беременным женщинам приводит к резко выраженной ксантуруеноурии на протяжении всего периода беременности, а введение пиридоксина сопровождается быстрым ее снижением. Имеются указания на то, что стресс стимулирует ускорение обмена триптофана по кинурениновому пути обмена, что сопровождается накоплением ксантуруеновой кислоты. Впервые развитие ксантуруенового диабета у мышей было вызвано инъекцией 200 мг/кг эндогенно синтезированной ксантуруеновой кислоты [56]. Диета, обогащенная жирами, приводит к развитию ожирения в сочетании с повышенной ксантуруеноурией, достигающей у животных 2—3 мг/сут [73]. Гистологически обнаруживаются дегрануляция β -клеток, вакуолизация цитоплазмы, деструкция β -клеток и развитие гидропической дегенерации [13, 54, 55, 56]. Как и другие диабетогенные производные 8-оксихинолина, ксантуруеновая кислота способна образовывать токсичные комплексы состава 1:1 с ионами цинка. Между тем механизмы ее действия представляются сегодня более сложными. Известно, что она, связываясь с инсулином, ведет к его инаktivации и последующему

перенапряжению β -клеток [57], что может послужить толчком к развитию диабета [63]. Нельзя исключать неблагоприятного воздействия кинуреновой и 8-оксихинальдиновой кислот, которые образуются в организме параллельно (хотя и в значительно меньших количествах) с ксантуруеновой кислотой при нарушениях обмена триптофана и которые, не оказывая прямого диабетогенного действия, могут усугублять возникший диабет благодаря способности связывать инсулин.

Вместе с тем сегодня основной причиной развития диабета, вызываемого ксантуруеновой кислотой, считается ее способность, так же как и способность дитизона и производных 8-оксихинолина, образовывать токсичные для β -клеток комплексы ксантуруеновая кислота—цинк состава 1:1. В последнее время получены дополнительные подтверждения в пользу этого: в опытах с длительной мобилизацией цинк-инсулинового комплекса из β -клеток с помощью гликлазида и глибенкламида [75—79], которая предотвращает взаимодействие ксантуруеновой кислоты с ионами цинка, развития экспериментального диабета у животных не наблюдали, несмотря на то, что повреждения отдельных β -клеток имели место.

О возможности предупреждения диабета, вызываемого комплексобразующими соединениями

При изучении вопроса о том, в течение какого минимального промежутка времени необходимо присутствие в цитоплазме β -клеток токсичных комплексов для того, чтобы вызвать развитие в них необратимых изменений, были проведены опыты с более сильным хелатообразователем, производным тиокарбаминовой кислоты — диэтилдитиокарбаматом натрия (ДДКН), который имеет более высокую аффинность в отношении цинка и способен вытеснять как дитизон, так и диабетогенные производные 8-оксихинолина из их комплексов с цинком, образуя с ним хелаты через группу NCS_2 , не обладающие диабетогенным действием. Аналогичные свойства имеют диметилдитиокарбаминовая кислота и ее производные. Благодаря этим свойствам производные карбаминовой кислоты с конца 50-х годов использовали при лечении отравлений тяжелыми металлами. Известно также, что ЭДТА и некоторые другие хорошо изученные хелаторы имеют высокую аффинность в отношении ионов цинка и константа устойчивости образующихся с ним хелатов составляет 13,1, тогда как константа стабильности с ионами магния, кальция и железа составляет 5,4, 7,3 и 10,9 соответственно [71]. В опытах на культуре изолированных островков ЭДТА, связываясь с цинком, предотвращала повреждающее действие стрептозотоцина [71].

Детальное изучение процессов взаимодействия островкового цинка с ДДКН позволило обнаружить, что введение его в дозе 250 мг/кг вызывает значительное ослабление положительной люминесцентной реакции на цинк в β -клетках, однако частично ионы цинка остаются несвязанными. Введение его в дозах, равных 500 и 1000 мг/кг, сопровождается отсутствием флюоресценции β -кле-

ток, что свидетельствует о полном связывании островкового цинка. В отличие от дитизона и производных 8-оксихинолина расщепление комплекса цинк—ДДКН происходит более медленно: через 10—12 ч после инъекции появляется лишь слабое свечение β -клеток, через 24 ч освобождается большая часть цинка и через 48 ч интенсивность флюоресценции β -клеток не отличается от контроля. Таким образом, ДДКН способен в дозах 500 мг/кг и выше как минимум на несколько часов блокировать островковый цинк [9, 10, 12]. Введение ДДКН в дозе 500 мг/кг за 0,1—6 ч до инъекции вышеназванных диабетогенных веществ в 100% случаев предотвращает связывание островкового цинка, что подтверждается гистохимически, и развитие диабета у животных после введения диабетогенных хелаторов в течение 10—12 ч [3]. Флюоресцирующий ярко-зеленым светом комплекс цинка с 8-ТСХ, а также пурпурные гранулы дитизоната цинка в этом случае не образуются и в β -клетках не обнаруживаются. Инъекция ДДКН через 15 мин после введения дитизона сопровождается полным вытеснением дитизона и производных 8-оксихинолина из их связи с цинком с формированием недиабетогенного комплекса металла с ДДКН, однако возникновение диабета предупреждается в этом случае лишь у 5% животных, тогда как у 95% он развивается. Если же ДДКН вводили через 5 мин после инъекции дитизона, последний полностью вытеснялся из его комплекса с цинком и диабет при этом предупреждался у 95—97% животных [12]. Введение же его через 2 ч после инъекции дитизона у всех животных не предотвращает развития диабета.

Таким образом, 15-минутного присутствия токсичного хелата в цитоплазме β -клеток достаточно для возникновения экспериментального диабета у животных. Формирующиеся затем гистологические изменения, характерные для картины диабета, являются следствием повреждений, развившихся в первые минуты действия диабетогенных хелатообразующих веществ.

Способность образовывать нетоксичные соединения с тяжелыми металлами, предупреждая развитие диабета, вызываемого комплексообразующими веществами, свойственна аминокислотам цистеину и глутатиону, имеющим в структуре сульфгидрильные группы, обладающие высокой тропностью по отношению к ионам цинка, свинца, кадмия и ртути. Считается, что посредством этих групп осуществляется формирование этими аминокислотами комплексных солей с цинком. Константа стабильности комплекса цинк—цистеин очень высока и составляет 17,1—18,2 [21]. Еще одна аминокислота — гистидин — формирует с цинком комплексы состава 2:1, имеющие необычно высокую константу устойчивости, логарифм которой равен 12, уступая при этом только цистеину. Способность формировать с металлами, в том числе с цинком, комплексы связана в отличие от других аминокислот с наличием в структуре гистидина имидазольного кольца [80].

Введение цистеина в дозе 1000 мг/кг предупреждает появление в β -клетках гранул цинк—дитизон и развитие диабета у всех животных в течение 6 ч;

через 12 ч диабет не развился у 6 из 8 животных и у половины животных, которым дитизон вводили через 24 ч после цистеина. Аналогичное предупреждающее действие цистеин оказывает и в отношении диабета, вызываемого производными 8-оксихинолина, в частности диабета, получаемого при введении 5-(диэтиламинофенилазо)-8-оксихинолина. Аминокислота серин, имеющая такое же строение, как и цистеин, но содержащая вместо сульфгидрильной группы гидроксильную, диабетогенного действия не оказывает.

Предупреждает развитие диабета и другая аминокислота — восстановленный глутатион. Предварительное ее введение в дозе 1000 мг/кг предупреждает развитие дитизонного диабета у всех подопытных животных: уровень гликемии остается в пределах нормальных значений и отсутствуют какие-либо изменения со стороны гистоструктуры островковых клеток. При окислении восстановленного глутатиона 2 его молекулы соединяются в 1 с образованием дисульфидной связи, т. е. сульфгидрильные группы в процессе окисления превращаются в дисульфидную связь. Введение животным окисленного глутатиона в той же дозе не предупреждало развитие диабета у всех подопытных животных. Таким образом, инактивация или замена сульфгидрильных групп в молекулах цистеина и глутатиона сопровождаются полной утратой ими диабетогенных свойств [8]. Очевидное превентивное действие в отношении развития дитизонного диабета оказывает гистидин. Введение 1000 мг/кг солянокислого гистидина животным за несколько минут до дитизона предупреждало развитие диабета у большинства животных, а у половины из них диабет не развивался, если дитизон вводили через 0,5—1 ч [8].

Предотвращение связывания островкового цинка диабетогенными цинк-связывающими соединениями может быть осуществлено и другим способом — предварительным достаточно полным выведением из β -клеток островкового цинка в виде цинк-инсулинового комплекса с помощью сахаропонижающих сульфаниламидных препаратов [2]. После максимально полного выведения цинка, для чего требуется как минимум от 1 до 3 сут, введение дитизона или производных 8-оксихинолина не сопровождается образованием в островках хелатов с цинком и диабет у животных не развивается. Такой способ предупреждения развития диабета, вызываемого комплексообразующими веществами, является вполне приемлемым в случаях ожидаемого однократного поступления в организм диабетогенного вещества, что позволяет своевременно мобилизовать ионы цинка из β -клеток. Вместе с тем в других случаях, требующих длительной мобилизации цинк-инсулинового комплекса из β -клеток, данный подход не может считаться целесообразным, так как длительная мобилизация из β -клеток цинк-инсулинового комплекса является достаточно серьезным вмешательством в процессы нормальной регуляции деятельности β -клеток.

В последнее время получены данные о том, что стептозотонин, наиболее часто используемое соединение для получения экспериментального диабета, обладает комплексообразующими свойствами

и имеет особую тропность по отношению к цинку. Получены первые результаты, свидетельствующие о том, что повреждающее действие стрептозотоцина может быть предотвращено или ослаблено в условиях предварительного воздействия ЭДТА на островковые β -клетки или при конкурентном взаимодействии ЭДТА с ионами цинка, добавленными в питательную среду, содержащую изолированные панкреатические островки [71].

Исследование механизмов диабетогенного действия комплексообразующих веществ дитизона и изученных производных 8-оксихинолина имеет теоретическое значение, поскольку помогает более детально понять один из возможных механизмов развития сахарного диабета. Большинство этих веществ не способно образовываться в организме человека. Возможности поступления в организм дитизона весьма невелики в связи с тем, что контактировать с ним могут лишь ограниченное число химиков-аналитиков, поскольку он используется в аналитической химии при выявлении следов металлов. Кроме того, и дитизон, и диабетогенные дериваты 8-оксихинолина могут оказывать свое действие только при парентеральном введении в достаточных больших дозах, причем их растворы являются очень нестойкими и должны быть приготовлены и использованы перед введением. Возможности поступления в организм диабетогенных производных 8-оксихинолина также весьма ограничены. Отдельные фармакологические препараты для перорального применения содержат его дериваты, однако возможность их проникновения в кровь через кишечник представляется проблематичной. Тем не менее нельзя полностью исключить вероятность всасывания производных 8-оксихинолина в кишечнике, в связи с чем существуют рекомендации, касающиеся мер безопасности при использовании их в видах деятельности, связанных с их применением, рекомендации по применению препаратов, содержащих дериваты 8-оксихинолина, а также рекомендации по ограничению их производства, особенно тех, которые способны образовывать 4- и 5-членные комплексы с цинком, являющиеся наиболее токсичными для клеток. Из 18 диабетогенных производных 8-оксихинолина реально способна образовываться в организме человека при обменных нарушениях лишь ксантуреновая кислота.

В последние десятилетия возможности попадания в организм человека комплексообразующих веществ, среди которых имеются и обладающие диабетогенной активностью, значительно расширились. Необходимо упомянуть в первую очередь антибиотик тетрациклин, который является сильнейшим комплексообразующим соединением, образующим с ионами цинка комплексы состава 1:1 и 2:1, и имеет высокую константу устойчивости, равную 9 [80]. В высоких дозах он, действуя непосредственно на β -клетки, вызывает гиперплазию и развитие дегенеративных изменений в них. Противотуберкулезный препарат изониазид способен образовывать прочные 5-членные хелаты с ионами цинка. Возможно, существует какой-то параллелизм между этим обстоятельством и тем, что у больных туберкулезом, длительное время

лечившихся изониазидом, сахарный диабет развивается значительно чаще. Это вызывает тем больший интерес, если принять во внимание тот факт, что у таких больных уровень ксантуренурии часто бывает повышенным, вероятно, вследствие того, что изониазид является антагонистом пиридоксаль-5-фосфата [59].

Комплексообразующими свойствами обладает образующаяся в организме в результате окисления аскорбиновой кислоты дегидроаскорбиновая кислота, которая вызывает экспериментальный диабет у животных в результате прямого повреждающего воздействия на β -клетки [74]. У больных сахарным диабетом накопление ее в организме возрастает на фоне снижения количества аскорбиновой кислоты [69]. Комплексообразующими свойствами обладают оказывающие влияние на углеводный обмен мочегонные средства — производные бензотиадиазина. Имеются указания о переходе скрытого диабета в явный в условиях лечения гипотиазидом. У здоровых лиц на фоне лечения тиазидами нередко развиваются признаки диабета [70], а хлортиазид способен вызывать стойкую гипергликемию и в некоторых случаях глюкозурию у многих видов животных.

Отмечено, что диабетогенной активностью обладают те комплексообразующие вещества, которые способны образовывать в процессе хелации с цинком 4- или 5-членные кольца. Кроме того, диабетогенной активностью обладают соединения, имеющие не менее 4 двойных связей, участвующих в сопряжении. Наоборот, диабетогенной активности лишены вещества, не имеющие двойных связей либо имеющие 1—2 связи, способные к сопряжению.

Таковыми свойствами обладают производные дитиокарбаминовой и диметилдитиокарбаминовой кислот, цистеин, глутатион и гистидин. Образуемые ими хелатные комплексы с цинком не содержат в своей структуре 4- или 5-членные кольца и либо вообще не имеют в структуре двойных связей, участвующих в сопряжении, либо имеют не более 1—2 таких связей. Они не оказывают разрушающего действия на β -клетки, а наоборот, оказывают протективное действие в отношении развития диабета при введении диабетогенных комплексообразующих соединений. Между тем окончательно ответить на вопрос, почему комплексы цинк—производные дитиокарбаминовой кислоты не оказывают повреждающего влияния на клетки, сегодня не представляется возможным. Отсутствие способности у них образовывать 4- или 5-членные кольца с цинком при наличии нескольких двойных связей, участвующих в сопряжении, является установленной закономерностью, но еще не доказательством того, что именно эта особенность хелаторов обуславливает отсутствие токсичности таких комплексов для клеток.

Приведенные выше данные, а также то обстоятельство, что возможности поступления в организм человека диабетогенных комплексообразующих веществ в виде лекарственных препаратов и иными путями в последние десятилетия значительно расширились, заставляют обратить внимание на эту группу веществ как на одну из возможных причин

развития сахарного диабета у человека. Значение такой возможности еще более возрастает, если учесть, что панкреатические β -клетки человека отличаются высоким содержанием ионов цинка, способного реагировать с диабетогенными комплексобразующими соединениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бавельский З. Е., Зумеров Е. Л. // Пробл. эндокринолог. — 1984. — № 1. — С. 65—69.
2. Бавельский З. Е., Мейрамов Г. Г. // Биология растений и животных. — Караганда, 1976. — С. 119—123.
3. Мейрамов Г. Г., Труханов Н. И. // Труды КарГУ. — 1975. — Вып. 2. — С. 263—267.
4. Красавин И. А., Бавельский З. Е., Лазарис Я. А., Дзиомко В. М. // Пробл. эндокринолог. — 1969. — № 3. — С. 102—105.
5. Лазарис Я. А., Бавельский З. Е. // Пат. физиол. — 1970. — № 2. — С. 44—48.
6. Лазарис Я. А., Дзиомко В. М., Красавин И. А. // Пробл. эндокринолог. — 1968. — № 4. — С. 107—111.
7. Лазарис Я. А., Лазарис А. Я. // Там же. — 1967. — № 3. — С. 75—81.
8. Лазарис Я. А., Лазарис А. Я. // Пат. физиол. — 1967. — № 7. — С. 45—48.
9. Лазарис Я. А., Мейрамов Г. Г. // Бюл. exper. биол. — 1974. — № 3. — С. 19—22.
10. Лазарис Я. А., Мейрамов Г. Г. // Пробл. эндокринолог. — 1974. — № 5. — С. 90—94.
11. Лапин В. И., Мейрамов Г. Г., Сатосин В. Ф., Корчин В. И. // Пат. физиол. — 1973. — № 4. — С. 36—40.
12. Мейрамов Г. Г., Труханов Н. И. // Пробл. эндокринолог. — 1975. — № 6. — С. 92—95.
13. Мейрамов Г. Г., Конерт К.-Д., Андреева А. П. // Бюл. exper. биол. — 1997. — № 6. — С. 669—772.
14. Шарафетдинов Х. Х. и др. // Пробл. эндокринолог. — 1998. — № 1. — С. 13—15.
15. Scott D. A., Fischer A. M. // J. Pharm. Exp. Ther. — 1935. — Vol. 55. — P. 206—221.
16. Scott D. A., Fischer A. M. // J. Clin. Invest. — 1938. — Vol. 17. — P. 725—728.
17. Eisenbrandt J., Sienz M., Wegel F. // Medizin und Chemie. — 1942. — N 8. — S. 259—296.
18. Voigt G. E. // Virchows Arch. Path. Anat. — 1959. — N 4. — P. 295—323.
19. Voinar A. // Biological Role of Microelements in Organism of Human and Animals. — 1960. — P. 311—365.
20. Galabova R., Petkov P., Kolev J. // Acta Histochem. — 1971. — N 2. — P. 335—342.
21. Weitzel G., Buddecke E., Kraft D. // Angew. Chem. — 1956. — N 17—18. — P. 566—572.
22. Okamoto K. // Liver. — 1942. — Vol. 32. — P. 99—105.
23. Okamoto K. // Ibid. — 1943. — Vol. 33. — P. 247—252.
24. Schmidt R., Rautschke R. // Acta Histochem. — 1964. — Vol. 17. — P. 302—313.
25. Okamoto K. // Kyoto J. Med. — 1951. — N 1. — P. 77—88.
26. Maske H. // Acta Neuroveget. — 1953. — Vol. 2, N 2. — P. 96—104.
27. Maske H., Weingas K. // Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. — 1957. — Vol. 230. — P. 406—420.
28. Voigt G. // Acta Pathol. Microbiol. Scand. — 1957. — Vol. 41. — P. 81—88.
29. Miller W., Kincaid R., Neathery M. et al. // Trace Elem. Metab. Man Anim. — 1978. — P. 175—178.
30. Lowry P., Baldwin R., Harrington. // Science. — 1954. — Vol. 119. — P. 219—220.
31. Kawanishi H. // Endocrinol. Jap. — 1966. — Vol. 13, N 4. — P. 384—408.
32. Okamoto K., Kawanishi H. // Ibid. — N 3. — P. 305—318.
33. Yokoh S., Aoji O., Matsuno Z., Yoshida H. // Diabetologia. — 1969. — Vol. 5. — P. 137—142.
34. Okamoto K. // Acta Sch. Med. Univ. Kyoto. — 1949. — Vol. 27, N 1. — P. 43—65.
35. Maske H. // Experientia. — 1955. — Vol. 11, N 3. — P. 122—128.
36. Okamoto K., Fujiwara T., Sukenary K., Fukutomi H. // Trans. Soc. Pathol. Jap. — 1951. — Vol. 40. — P. 150—153.
37. Wolff H., Maske H., Stampfl B., Baumgarten F. // Klin. Wschr. — 1951. — N 39—40. — S. 670—671.
38. Wolff H., Ringleb D. // Naturwissenschaften. — 1954. — Bd 41, N 11. — S. 260—261.
39. Stampfl B. // Acta Histochem. — 1959. — Vol. 8. — P. 406—447.
40. Stampfl B. // Verh. Dtsch. Ges. Path. — 1959. — Bd 42. — S. 137.
41. Mager M., McNary W., Lionetti F. // J. Histochem. Cytochem. — 1953. — N 1. — P. 493.
42. Okamoto K. // Tohoku J. Exp. Med. — 1955. — Vol. 61. — Suppl. 3. — P. 1—61.
43. Kadota I. // J. Lab. Clin. Med. — 1950. — Vol. 35. — P. 568—591.
44. Kadota I., Abe T. // Ibid. — 1954. — Vol. 43. — P. 375—385.
45. Fujiwara T. // Bull. Kobe Med. Coll. — 1954. — Vol. 4. — P. 1091—1131.
46. Uemura T. // Ibid. — 1956. — Vol. 7. — Suppl. 1. — P. 1—25.
47. Ichioka T. // Kobe J. Med. Sci. — 1958. — Vol. 4, N 2. — P. 63—80.
48. Albert A., Rubbo S. // Br. J. Exp. Pathol. — 1947. — Vol. 28. — P. 69—70.
49. Zenitmyer G. // Science. — 1944. — Vol. 100. — P. 294.
50. Rubbo S., Albert A. // Br. J. Exp. Pathol. — 1950. — Vol. 31. — P. 425—428.
51. Musajo S. // Atti Accad. Lincei. — 1935. — Vol. 21. — P. 368—370.
52. Lepkovsky S., Roboz E. // J. Biol. Chem. — 1943. — Vol. 149. — P. 195—201.
53. Kandori F., Fujinaga Y. // Yonago Acta Med. — 1959. — N 3. — P. 146.
54. Kotake Y. // Clin. Chem. — 1957. — N 3. — P. 442—456.
55. Weitzel G., Buddecke E., Kraft D. // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. — 1954. — Bd 298. — S. 169—184.
56. Kotake Y., Inada T. // J. Biochem. — 1953. — Vol. 40, N 3. — P. 287—289.
57. Murakami E. // Ibid. — 1968. — Vol. 63. — P. 573—577.
58. Clark S., Borland K., Sherman S. et al. // Cell Transplant. — 1994. — Vol. 3, N 4. — P. 299—306.
59. Prince S., West A. // J. Pharmacol. — 1960. — Vol. 12, N 10. — P. 617—623.
60. Garattini G., Valzetti L. // N. Y. St. J. Med. — 1965. — Vol. 65, N 11. — P. 75—81.
61. Zariman E., Barnes A. et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. — 1955. — Vol. 70, N 3. — P. 645—649.
62. Montenero P. // Arch. Stud. Fisiopatol. Ricambio. — 1960. — Vol. 24, N 3—4. — P. 285—289.
63. Ueda T., Goda K., Mori T. et al. // J. Biochem. — 1977. — Vol. 82. — P. 67—72.
64. Andersson T., Betgren P., Flatt P. // Horm. Metab. Res. — 1980. — Vol. 12. — P. 275—276.
65. Emdin S., Dodson G., Cuffield J., Cuffield S. // Diabetologia. — 1980. — Vol. 19. — P. 174—182.
66. Hattori M., Kotake Y., Kotake Y. // Acta Vitaminol. Enzymol. — 1984. — Vol. 38, N 3. — P. 221—228.
67. Grepaldi G., Allegri G. et al. // Ibid. — 1975. — Vol. 29. — P. 140—144.
68. Hattori M., Koyama S. et al. // 2-nd Intern. Meet. Trypt. Metab. — Madison, 1977. — P. 32.
69. Kabrt J. // Čas. Lek. Čes. — 1982. — Vol. 27. — P. 833—836.
70. Korenyi C., Lowenstein B. // Dis. Nerv. Syst. — 1968. — Vol. 29. — P. 827—828.
71. Kim B., Kim Y., Kim J. et al. // Diabetes. — 2000. — Vol. 49, N 3. — P. 367—372.
72. Okamoto K. // Diabetes Mellitus: Theory and Practice. — New York, 1970. — P. 236—255.
73. Kotake Y., Sotokawa Y. et al. // J. Biochem. — 1968. — Vol. 63. — P. 895—896.
74. Patterson J. // Endocrinology. — 1949. — Vol. 45. — P. 344.
75. Meyramov G. // Transplant. Proc. — 1998. — Vol. 30, N 6. — P. 2682—2684.
76. Meyramova A., Abikenova F., Kikimbaeva A. et al. // Diabetes Res. Clin. Pract. — 2000. — Vol. 50. — Suppl. 1. — P. 154—155.
77. Meyramov G., Kikimbaeva A., Meyramova A., Abikenova F. // Acta Diabetol. — 2000. — Vol. 37, N 3. — P. 160.
78. Meyramov G., Tusupbekova G., Meyramova R. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40, N 5. — Suppl. 1. — P. 65.
79. Meyramov G., Kohnert K.-D., Meyramova A. // Ibid. — 2000. — Vol. 49, N 5. — P. 429.
80. Albert A. // Selective Toxicity. — London, 1968.