

ДОСТАВКА ИНСУЛИНА ПЕРОРАЛЬНЫМ ПУТЁМ С ПОМОЩЬЮ ХИТОЗАНОВЫХ НАНОЧАСТИЦ: СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОКИНЕТИКА И ГЛИКЕМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ ПОДКОЖНОГО ИНСУЛИНА НА МОДЕЛИ САХАРНОГО ДИАБЕТА, ИНДУЦИРОВАННОГО АЛЛОКСАНОМ, У КРЫС: АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ

Ассистент Джурсаев Мухаммадназар Баходирович,

д.м.н., профессор Иноятова Феруза Хидоятовна,

к.м.н. Галиева Зульфия Ибрагимовна

*Ташкентский государственный медицинский университет, кафедра
медицинской и биологической химии №1, mukhammadvazard@gmail.com*

к.м.н. Милушева Ракия Юнусовна

Институт химии и физики полимеров АН РУз

Аннотация: Основные барьеры пероральной доставки инсулина — деградация в желудке и кишечные барьеры — преодолеваются с помощью хитозановых наночастиц. В данной аналитической статье на основе литературных данных анализируется сравнительная гликемическая эффективность и фармакокинетика пероральных инсулиновых систем на основе хитозана в сопоставлении с подкожным инсулином на модели экспериментального диабета, индуцированного аллоксаном. Результаты создают методическую основу для проекта сравнительного исследования.

Ключевые слова: хитозановые наночастицы; пероральный инсулин; модель аллоксанового диабета; биодоступность; гликемический контроль; мукоадгезия.

Абстракт: Подкожная инъекция инсулина остаётся пожизненным бременем терапии сахарного диабета 1 типа, и разработка неинвазивной пероральной альтернативы является одним из наиболее активных направлений фармацевтической нанотехнологии. Хитозан — катионный мукоадгезивный полисахарид — стал ведущим носителем для перорального инсулина, поскольку он защищает инсулин от желудочной деградации, прилипает к слизистому слою кишечника и обратимо открывает плотные контакты эпителия. В данной статье анализируются опубликованные доклинические данные о системах пероральной доставки инсулина на основе хитозана в сравнении со стандартной подкожной инсулинотерапией, с особым вниманием к модели диабета, индуцированного аллоксаном у крыс, как предполагаемой животной платформе. Сообщается, что пероральный инсулин в полисахаридных наночастицах снижал уровень глюкозы в сыворотке до 67% и 64% от исходного уровня в дозах 50 и 100 МЕ/кг с

эффектом, превышающим 24 часа, и 2–3-кратным улучшением относительной фармакологической доступности по сравнению с раствором перорального инсулина. У крыс с аллоксановым диабетом муцин-хитозановые наночастицы обеспечивали более медленное начало действия, но значительно более длительный сахароснижающий эффект (до 12 часов против 4 часов для подкожного инсулина), а новейшие составы достигали 24-часового гликемического контроля с уровнями инсулина в сыворотке, сравнимыми с недиабетическим контролем. Параметры индукции модели аллоксана — путь введения, диапазон доз, смертность и купирование ранней гипогликемии — критически обобщены для обоснования дизайна прямого сравнительного исследования *in vivo*.

Keywords: chitosan nanoparticles; oral insulin delivery; alloxan-induced diabetes; bioavailability; mucoadhesion; glycemic control; pharmacokinetics; subcutaneous insulin.

ВВЕДЕНИЕ

Лечение сахарного диабета требует пожизненного гликемического контроля; для инсулинозависимых пациентов это уже более века связано с повторяющимися подкожными инъекциями [3]. Бремя ежедневных инъекций ведёт к снижению приверженности лечению, липодистрофии и местным неудобствам; кроме того, оно не обеспечивает физиологическую поральную доставку, как инсулин, секретируемый поджелудочной железой [3]. Основные барьеры для перорального инсулина чётко определены: инсулин быстро разрушается в кислой среде желудка и под действием протеолитических ферментов тонкого кишечника; из-за гидрофильности и молекулярного размера он не проходит через кишечный эпителий путём пассивной диффузии; даже при всасывании его пероральная биодоступность исторически была значительно ниже терапевтических пределов [3]. Нанотехнологические носители, особенно системы на основе хитозана, одновременно решают все три барьера [14]. Хитозан — линейный катионный полисахарид, получаемый деацетилированием хитина, — обладает тремя важными свойствами как пероральный носитель инсулина: (i) мукоадгезия — его положительно заряженные аминогруппы электростатически взаимодействуют с отрицательно заряженным муциновым слоем кишечного эпителия, увеличивая время пребывания в месте всасывания; (ii) повышение проницаемости — временно открывает плотные контакты (tight junction) между эпителиальными клетками, открывая путь парацеллюлярного транспорта макромолекул; (iii) защита — инкапсуляция инсулина предохраняет его от желудочного и ферментативного разрушения [14]. Эти свойства подтверждены на множестве архитектур наночастиц у диабетических грызунов:

наблюдалась длительность действия перорального инсулина до 24 часов — длительность, которой не даёт сама по себе подкожная инъекция [1]. Для экспериментальной оценки у грызунов модель диабета, индуцированного аллоксаном, остаётся одной из наиболее широко используемых моделей для оценки гликемического контрольного потенциала терапевтических соединений; несмотря на доминирование стрептозотоцина в литературе, аллоксан сохраняет решающие практические преимущества — он дешёв и легкодоступен [8]. Сам хитозан, помимо доставки, обладает природной антиоксидантной и противовоспалительной активностью, значимой для коррекции окислительного стресса, сопровождающего экспериментальную гипергликемию [5]. Цель настоящего анализа — обобщить опубликованные доклинические данные о фармакокинетической и гликемической эффективности пероральных инсулиновых систем доставки на основе хитозана в сравнении с подкожным инсулином, а также систематизировать методические параметры модели аллоксана для планируемого сравнительного исследования *in vivo*.

АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ И МЕТОДОЛОГИЯ

Настоящая статья представляет собой систематический аналитический обзор опубликованных доклинических исследований носителей инсулина на основе хитозана и модели аллоксанового диабета. Источники проанализированы по трём направлениям: (1) архитектура системы доставки и механизм действия; (2) зарегистрированные *in vivo* гликемические и фармакокинетические результаты в сравнении с подкожным инсулином; (3) параметры индукции диабета в модели аллоксана.

Хитозановые системы пероральной доставки инсулина

Механическая основа пероральной доставки инсулина на основе хитозана описана в обширном обзоре pH-чувствительных наночастиц с хитозановой оболочкой, где прослежен путь системы через желудочно-кишечный тракт: частица защищает инсулин в кислом желудке и высвобождает его в кишечнике, обеспечивая всасывание через мукоадгезию и открытие плотных контактов [14]. Из этой литературы вытекают два показателя биодоступности, служащие референтными ориентирами для любых новых составов: $17,98 \pm 5,61\%$ для системы «наночастица–конъюгат» и $11,78\%$ для pH-чувствительных хитозановых наночастиц в дозе 50 МЕ/кг у диабетических мышей [3]. Классическая фармакологическая работа, изучавшая инсулин, загруженный в полисахаридные наночастицы, определила дозозависимую реакцию перорального инсулина в форме наночастиц: в дозах 50 и 100 МЕ/кг уровень глюкозы снижался до 67% и 64% от исходного соответственно, гипогликемический эффект длился более 24 часов, а относительная фармакологическая доступность была в 2–3 раза выше, чем у раствора

перорального инсулина [13]. Для нашей конкретной животной модели — крыс с аллоксановым диабетом — наиболее прямые сравнительные данные предоставили мукоадгезивные наночастицы на основе муцин-хитозановых комплексов: пероральные составы действовали медленнее, чем подкожный инсулин, но сахароснижающий эффект длился значительно дольше (до 12 часов против 4 часов у подкожного инсулина), причём эффект зависел от концентрации хитозана — 4% w/v превосходил 2% w/v [10]. Новейшие работы подтвердили, что системы пероральных инсулиновых наночастиц достигают стабильного гликемического контроля до 24 часов, а уровень инсулина в интервале 12–24 часа соответствует уровням недиабетического контроля [1]. Помимо снижения глюкозы, инкапсулированный хитозаном инсулин оказывает терапевтическое действие и на клеточном, и на молекулярном уровне. При введении пероральных инсулин-хитозановых наночастиц с пектин-декстриновой оболочкой диабетическим крысам в течение 4 недель наблюдались значительное улучшение уровня глюкозы, повышение активности антиоксидантных ферментов, снижение NF-κB p65, IL-1β и IL-6, повышение Nrf-2 и HO-1 и восстановление гистологической архитектуры поджелудочной железы — эффект сопоставим с подкожным инсулином [12]. Эти показатели (гистология поджелудочной железы, маркеры безопасности печени и почек, биомаркеры окислительного стресса) составляют набор вторичных исходов планируемого сравнительного исследования. Доставка инсулина на основе хитозана выходит за рамки наночастиц и включает депо-системы длительного действия: термочувствительные хитозановые гидрогели *in vitro* высвобождали 19–63% инсулина в течение 150 часов и обеспечивали 5-дневный гипогликемический эффект после однократной подкожной инъекции у диабетических мышей [15], а инъецируемые композитные депо-системы поддерживали стабильный уровень инсулина и снижение глюкозы более 60 часов у диабетических мышей [16]. Глюкозочувствительные хитозановые гидрогели и микрогели, высвобождающие инсулин по замкнутому циклу в зависимости от уровня окружающей глюкозы, представляют собой будущее направление этой платформы [2, 7].

Модель аллоксанового диабета: параметры индукции

Методическая точность индукции диабета определяет состоятельность любого сравнительного исследования *in vivo*. Аллоксан имеет более узкий терапевтический индекс, чем стрептозотозин, и путь введения имеет решающее значение. В контролируемом исследовании, сравнивавшем пути введения, однократное внутрибрюшинное введение высокой дозы (200 мг/кг) дало наилучшую индукцию диабета 1 типа у крыс Sprague-Dawley — частота 70% при смертности всего 10%; внутривенное введение в тех же дозах было токсичным,

а многократное дозирование увеличивало смертность [6]. Логистическая регрессия определила минимальную надёжную подкожную дозу 120 мг/кг с вероятностью индукции 0,712 [11]. В прямом сравнительном исследовании доз 150 мг/кг дала наибольшую частоту диабета, 180 мг/кг — наибольшую смертность, а 120 мг/кг — наибольшее число неудач индукции [4]; отдельное исследование предпочло 150 мг/кг вместо 200 мг/кг из-за меньших кетоацидотических и гипергликемических осложнений [9]. Крысы, обработанные аллоксаном, могут спонтанно восстанавливаться или проявлять отсроченный диабет — явление, не характерное для стрептозотоцина, — поэтому гликемию необходимо повторно подтверждать через несколько дней после индукции [4]. В первые 24 часа индукции массивный лизис бета-клеток высвобождает запасённый инсулин, что может вызвать смертельную гипогликемию; поэтому необходимы тщательное наблюдение и поддерживающая терапия углеводами и жидкостью [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обобщённые результаты проанализированных исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1. Зарегистрированные in vivo результаты хитозановых систем доставки инсулина в сравнении с подкожным инсулином

Состав / система	Модель	Основной зарегистрированный результат	Литература
Полисахаридные наночастицы, пероральный инсулин 50 и 100 МЕ/кг	Диабетические грызуны	Глюкоза снижена до 67% и 64% от исходного уровня; эффект >24 ч; относительная фармакологическая доступность в 2–3 раза выше, чем у раствора перорального инсулина	[13]
Муцин-хитозановые мукоадгезивные наночастицы	Крысы с аллоксановым диабетом	Более медленное начало действия, чем подкожный инсулин; сахароснижающий эффект до 12 ч против 4 ч у подкожного инсулина; хитозан 4% w/v превосходит 2% w/v	[10]
pH-чувствительные наночастицы с хитозановой оболочкой, 50 МЕ/кг	Диабетические мыши	Относительная пероральная биодоступность 11,78%; система «наночастица–конъюгат» 17,98 ± 5,61%	[3]
Пероральные инсулин-хитозановые наночастицы (пектин-декстриновая оболочка), 4 недели	Диабетические крысы	Улучшение глюкозы; повышение антиоксидантных ферментов; снижение NF-κB p65, IL-1β, IL-6; повышение Nrf-2, HO-1; улучшение гистологии поджелудочной железы;	[12]

		сопоставимо с подкожным инсулином	
Пероральные инсулиновые наночастицы, новейшие составы	Диабетические крысы	Гликемический контроль до 24 ч; уровень инсулина в 12–24 ч соответствует недиабетическому контролю	[1]
Термочувствительный хитозановый гидрогель (депо)	Диабетические мыши	In vitro высвобождение 19–63% инсулина за 150 ч; 5-дневный гипогликемический эффект после однократной инъекции	[15]
Инъецируемое композитное депо	Диабетические мыши	Стабильный уровень инсулина; снижение глюкозы >60 ч	[16]

Из этих данных можно выделить три сравнительные закономерности. Первая — длительность: фармакодинамическое преимущество перорального инсулина на хитозановой основе — это длительность: в модели аллоксана до 12 часов против 4 часов у подкожного инсулина [10], а в новейших системах — до 24 часов с уровнем инсулина, соответствующим недиабетическому контролю [1]. Вторая — начало действия: пероральные системы стабильно демонстрируют отсроченное начало по сравнению с подкожной инъекцией, отражая транзит по желудочно-кишечному тракту и профиль высвобождения [10]. Третья — биодоступность: зарегистрированные значения относительной пероральной биодоступности (11,78%–17,98%) [3] вместе с 2–3-кратной фармакологической доступностью по сравнению с пероральным раствором [13] определяют количественный разрыв, который должна закрыть оптимизация состава. Параметры индукции модели аллоксана сводятся к следующему: однократное внутрибрюшинное введение высокой дозы (200 мг/кг: частота 70%, смертность 10%) [6]; сбалансированная альтернативная доза 150 мг/кг, снижающая кетоацидотические осложнения [4, 9]; ранняя поддержка декстрозой против двухфазной гипогликемии и окно подтверждения для выявления спонтанного восстановления [4].

ОБСУЖДЕНИЕ

Проанализированные данные подтверждают основную гипотезу планируемого докторского исследования: хитозановые наночастицы способны доставлять инсулин перорально в терапевтически значимых количествах, а их гликемический профиль отличается от профиля подкожного инсулина и превосходит его по длительности. Более медленное начало действия пероральных систем не всегда является клиническим недостатком: длительный профиль всасывания ближе к базальному замещению инсулина, и преимущество 12 часов против 4 часов в модели аллоксана напрямую поддерживает концепцию перорального инсулина как стратегии базального замещения [10].

Механистическая интерпретация согласуется во всех исследованиях: мукоадгезия к отрицательно заряженному слизистому слою, обратимое открытие плотных контактов и желудочная защита совместно объясняют длительный эффект и улучшенную доступность по сравнению с раствором инсулина [14]. Важно, что терапевтический эффект не ограничивается снижением глюкозы: исследование наночастиц с хитозан-инкапсулированным инсулином... Выбор модели аллоксана требует открытого методического обоснования.

Узкий терапевтический индекс аллоксана превращает решения о пути и дозе в фактор, определяющий исход индукции: однократное внутрибрюшинное введение 200 мг/кг дало частоту 70% и смертность 10%, внутривенное введение было токсичным, а многократное дозирование увеличивало смертность [6]; доза 150 мг/кг максимизировала частоту и ограничивала кетоацидотические осложнения [4, 9]; минимальная надёжная подкожная доза составила 120 мг/кг (вероятность индукции 0,712) [11]. Поскольку крысы, обработанные аллоксаном, могут спонтанно восстанавливаться или проявлять отсроченный диабет [4], наш планируемый протокол включает окно подтверждения гликемии до рандомизации групп и поддержку 5–10% декстрозой в первые 24 часа. Несмотря на эти методические требования, аллоксан оправдан для исследования сравнительной эффективности: это признанная модель оценки гликемического контрольного потенциала, кроме того, он дешевле и доступнее стрептозотоцина — решающий практический фактор для лабораторий Узбекистана [8].

Основной недостаток текущей доказательной базы — гетерогенность: опубликованные исследования различаются по виду животных, агенту индукции, единицам доз (МЕ/кг) и параметрам состава (концентрация хитозана, архитектура частиц), что препятствует прямому мета-аналитическому сравнению. Именно эту гетерогенность — одно контролируемое прямое сравнительное исследование с одинаковой индукцией аллоксаном, одинаковыми дозами, параллельными группами перорального нанопрепарата и подкожного инсулина, фармакокинетическими и гликемическими показателями — и предстоит заполнить.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опубликованные доклинические данные характеризуют хитозановые наночастицы как подтверждённый пероральный носитель инсулина с характерной фармакодинамической сигнатурой: отсроченное начало действия, сахароснижающий эффект в течение 12–24 часов (против 4 часов у подкожного инсулина) и относительная пероральная биодоступность до 17,98%. На модели крыс с аллоксановым диабетом — предполагаемой модели планируемого докторского исследования — прямые сравнительные данные уже

демонстрируют преимущество по длительности над подкожным инсулином, а молекулярные данные свидетельствуют о противовоспалительном и антиоксидантном восстановлении поджелудочной железы. Обобщённые параметры индукции аллоксана (однократное внутрибрюшинное введение высокой дозы, поддержка декстрозой в гипогликемическую фазу и окно подтверждения гликемии) создают методическую основу для планируемого прямого сравнительного исследования перорального инсулина в хитозановом нанопрепарате со стандартным подкожным инсулином. Настоящий анализ составляет литературную базу будущего сравнительного исследования *in vivo*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Abd-Alhussain, G. K., Al-Atrakji, M. Q. Y. M. A., Ahmed, S. J., & Fawzi, H. A. (2024). Efficacy of oral insulin nanoparticles for the management of hyperglycemia in a rat model of diabetes induced with streptozotocin. *PubMed Central*, 17(2), 217–225. <https://doi.org/10.25122/jml-2023-0355>
2. Ali, A., Saroj, S., Saha, S., Gupta, S., Rakshit, T., & Pal, S. (2023). Glucose-Responsive Chitosan Nanoparticle/Poly(vinyl alcohol) Hydrogels for Sustained Insulin Release In Vivo. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 15(27), 32240–32250. <https://doi.org/10.1021/acsami.3c05031>
3. Cao, S., Xu, S., Wang, H., Ling, Y., Dong, J., Xia, R., & Sun, X. (2019). Nanoparticles: Oral Delivery for Protein and Peptide Drugs. *AAPS PharmSciTech*, 20(5), 190. <https://doi.org/10.1208/s12249-019-1325-z>
4. Fajarwati, I., Solihin, D. D., Wresdiyati, T., & Batubara, I. (2023). Administration of alloxan and streptozotocin in Sprague Dawley rats and the challenges in producing diabetes model. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 1174(1), 12035. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1174/1/012035>
5. Farid, A., Ahmed, A. R., Alaa, O., & Safwat, G. (2024). Desert date seed extract-loaded chitosan nanoparticles ameliorate hyperglycemia and insulin deficiency through the reduction in oxidative stress and inflammation. *Scientific Reports*, 14(1), 5829. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-56352-3>
6. Federiuk, I. F., Casey, H. M., Quinn, M. W., Wood, M. D., & Ward, W. K. (2004). Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *PubMed*, 54(3), 252–257. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15253270>
7. Gu, Z., Dang, T. T., Ma, M., Tang, B. C., Cheng, H., Jiang, S., Dong, Y., Zhang, Y., & Anderson, D. G. (2013). Glucose-Responsive Microgels Integrated with Enzyme Nanocapsules for Closed-Loop Insulin Delivery. *ACS Nano*, 7(8), 6758–6766. <https://doi.org/10.1021/nn401617u>

8. Ighodaro, O. M., Adeosun, A., & Akinloye, O. A. (2017). Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. *Medicina*, 53(6), 365–374. <https://doi.org/10.1016/j.medici.2018.02.001>
9. Kim, J. M. (2024). Induction of Diabetes Mellitus Using Alloxan in Sprague Dawley Rats. *Cureus*, 16(6). <https://doi.org/10.7759/cureus.63359>
10. Momoh, M. A., Kenechukwu, F. C., Ofokansi, K. C., Attama, A. A., & Díaz, D. D. (2019). Insulin-loaded mucoadhesive nanoparticles based on mucin-chitosan complexes for oral delivery and diabetes treatment. *Carbohydrate Polymers*, 229, 115506. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115506>
11. Mostafavinia, A., Amini, A., Ghorishi, S. K., Pouriran, R., & Bayat, M. (2016). The effects of dosage and the routes of administrations of streptozotocin and alloxan on induction rate of type1 diabetes mellitus and mortality rate in rats. *Laboratory Animal Research*, 32(3), 160. <https://doi.org/10.5625/lar.2016.32.3.160>
12. Ramadan, H., Moustafa, N., Ahmed, R. R., El-Shahawy, A. A. G., Eldin, Z. E., Al-Jameel, S. S., Amin, K. A., Ahmed, O. M., & Abdul-Hamid, M. (2024). Therapeutic effect of oral insulin-chitosan nanobeads pectin-dextrin shell on streptozotocin-diabetic male albino rats. *PubMed Central*, 10(15). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35636>
13. Sarmiento, B., Ribeiro, A. J., Veiga, F., Ferreira, D., & Neufeld, R. J. (2007). Oral Bioavailability of Insulin Contained in Polysaccharide Nanoparticles. *Estudo Geral*, 8(10), 3054–3060. <https://doi.org/10.1021/bm0703923>
14. Sung, H., Sonaje, K., Liao, Z., Hsu, L., & Chuang, E. (2012). pH-Responsive Nanoparticles Shelled with Chitosan for Oral Delivery of Insulin: From Mechanism to Therapeutic Applications. *Accounts of Chemical Research*, 45(4), 619–629. <https://doi.org/10.1021/ar200234q>
15. Tahrir, F. G., Ganji, F., Mani, A. R., & Khodaverdi, E. (2014). In vitro and in vivo evaluation of thermosensitive chitosan hydrogel for sustained release of insulin. *Drug Delivery*, 23(3), 1028–1036. <https://doi.org/10.3109/10717544.2014.932861>
16. Trinh, T. A., Le, T. M. D., Ho, H. G. V., To, T. C. T., Nguyen, V. V. L., Huỳnh, Đ. P., & Lee, D. S. (2020). A novel injectable pH–temperature sensitive hydrogel containing chitosan–insulin electrosprayed nanosphere composite for an insulin delivery system in type I diabetes treatment. *Biomaterials Science*, 8(14), 3830–3843. <https://doi.org/10.1039/d0bm00634c>