

ФАРМАКОЛОГИЯ. ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 616.379-008.64-085.322

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ГИМНЕМЫ ЛЕСНОЙ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ В ЭРИТРОЦИТАХ И ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

А. А. Спасов, М. П. Самохина, В. А. Косолапов, Л. В. Ельцова, А. Е. Буланов

*Кафедра фармакологии Росздрава ВолГМУ,
Российский НИИ здоровья, г. Москва*

К настоящему времени убедительно доказана роль нарушений состояния углеводного, липидного обмена и окислительного стресса, инсулиновой резистентности и функциональной активности β -клеток в патогенезе сахарного диабета (Дедов И. И., 2003; Кубатиев А. А. и др., 1996; Salahudeen et al., 1997). В последнее время обнаружено, что гимнемовы кислоты, содержащиеся в листьях тропической лианы Гимнемы лесной (ГЛ) являются весьма перспективными фармакологическими агентами [9, 11]. В частности, оказалось, что гимнемовы кислоты обладают гипогликемическим эффектом, приводят к заметному снижению уровня триацилглицеринов, холестерина, ЛПОНП и могут быть использованы в терапии сахарного диабета [7, 8, 10].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Получить дополнительные сведения о влиянии ГЛ на перекисное окисление липидов (ПОЛ) и активности ферментов антиоксидантной системы, необходимых для расширения клинических показаний применения ГЛ, в частности для нормализации липидного обмена, снижения интенсивности ПОЛ, улучшения компенсации сахарного диабета, что будет способствовать снижению частоты сосудистых осложнений диабета, уменьшению частоты инвалидизации и летальности при сахарном диабете.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены на 40 крысах самцах массой 280–320 г. Формирование тяже-

лой формы экспериментального сахарного диабета вызывали у крыс стрептозотоцином ("Sigma", США) в дозе 45 мг/кг при внутривенном введении. Было сформировано 4 группы: 1) интактные животные; 2) животные с диабетом, получавшие питьевую (отстоянную) воду; 3) крысы с диабетом, получавшие ГЛ в дозе 280 мг/кг; 4) животные с диабетом, получавшие препарат сравнения "Танакан" в дозе 7 мг/кг. Все изучаемые препараты вводились перорально в течение 21 дня. Последнее введение препаратов проводилось за 120 мин до начала эксперимента.

В эритроцитах и плазме крови крыс определяли уровень продуктов ПОЛ – конъюгированных диенов (КД) и малонового диальдегида (МДА), а также активность супероксиддисмутазы (СОД).

Начальные продукты ПОЛ – КД – определяли в липидном экстракте, получаемом с помощью гептан-изопропиловой смеси (1:1) ("ЧДА", Россия). КД определяли по интенсивности поглощения в области 232 нм после высаливания воды [4] в гептановой фазе экстракта. Уровень ДК выражали в отн. ед.

МДА определяли в плазме крови и в эритроцитах в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) ("ICN Biomedicals", США). Для повышения специфичности реакции хромогенный продукт экстрагировали *n*-бутиловым спиртом [2]. Гемолизаты эритроцитов свободных от гемоглобина получали по методу А. В. Арутюнян и др. [1]. Колометрирование проводили при 532 нм в кюветах с длиной оптического пути 10,0 мм на спектрофотометре "СФ-46" ("Ломо", Россия).

Концентрацию МДА вычисляли по коэффициенту молярной экстинкции $K = 1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ для оптического показателя $E_{535-580}$ и выражали в нмоль/мл плазмы или эритроцитов.

Активность СОД. Электронные спектры поглощения регистрировались на спектрофотометре СФ-46 ("Ломо", Россия) при 406 нм в кюветках 10,0 мм на 0-й и 10-й минуте после инициирования реакции. Активность СОД рассчитывалась в единицах, исходя из того, что 1 ед. СОД ингибирует реакцию на 50 % [5].

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ "Statistica 6.0" ("StatSoft", США). Результаты биохимических исследований оценивали с использованием двуххвостового критерия Стьюдента (t) с поправкой Бонферони ($p \leq 0,05$) для сравнения 3 и более экспериментальных групп.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных исследований было установлено, что развитие стрептозотоцинового диабета сопровождается повышением уровня первичных продуктов ПОЛ – КД по сравнению с интактными животными (рис. 1).

Так, наибольший темп роста КД (на 39,3 %) был отмечен в плазме крови, при этом в эритроцитах изучаемый показатель вырос на 15,7 %. Нарастание количества КД в указанных средах может вызвать повреждение и частичное лизирование клеточных мембран эритроцитов и повреждение эндотелия сосудов. Кроме того, формирование патологии сопровождается увеличением уровня конечного продукта ПОЛ – МДА (см. табл.).

Максимальные изменения выявлены в плазме, где уровень этого продукта был на 20,5 % больше, чем в группе интактных животных. Также имела тенденция к возрастанию МДА в эритроцитах на 8 % по сравнению с контрольными значениями. Столь существенное усиление активности ПОЛ в конечном счете нарушает процессы микроциркуляции и инициирует атероматозный процесс. Кроме того, течение стрептозотоцинового диабета сопровождается снижением активности супероксиддисмутазы (рис. 2).

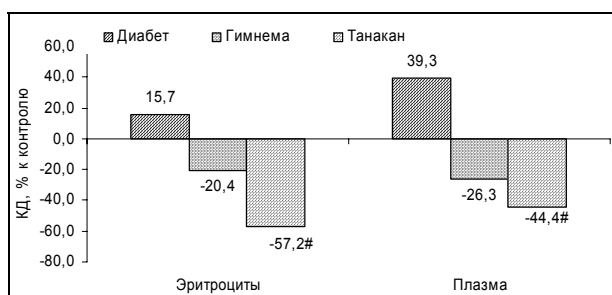


Рис. 1. Изменение уровня конъюгированных диенов в эритроцитах и плазме крови крыс со стрептозотоциновым диабетом (45 мг/кг) после курсового введения экстракта ГЛ (280 мг/кг) и Танакана (7 мг/кг):

– достоверно по отношению к группе животных с сахарным диабетом ($p < 0,05$)

Влияние ГЛ (280 мг/кг) и Танакана (7 мг/кг) на содержание малонового диальдегида со стрептозотоциновым диабетом (45 мг/кг), Мдм

Группы животных	МДА в эритроцитах, нМоль/мл эритроцитов	МДА в плазме крови, нМоль/мл плазмы
Интактные животные	3,17±0,131	4,92±0,177
Сахарный диабет	3,44±0,192	5,93±0,264
Сахарный диабет + экстракт ГЛ	1,83±0,157*#	4,80±0,039#
Сахарный диабет + Танакан	2,56±0,205	4,78±0,174

* – $p < 0,05$ по отношению к интактному контролю;
– $p < 0,05$ по отношению к группе крыс с сахарным диабетом.

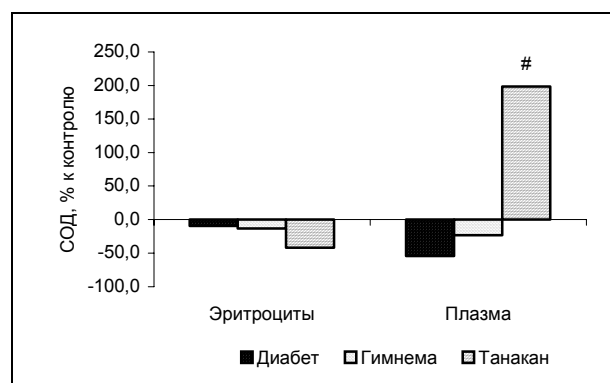


Рис. 2. Изменение активности супероксиддисмутазы в эритроцитах и плазме крови крыс со стрептозотоциновым диабетом (45 мг/кг) после курсового введения экстракта ГЛ (280 мг/кг) и Танакана (7 мг/кг):

– $p < 0,05$ достоверно по отношению к группе крыс с сахарным диабетом

Наиболее выраженное уменьшение количества фермента отмечается в плазме крови крыс, что, по-видимому, ведет к накоплению продуктов окисления и увеличивает вероятность повреждения тканей.

В ходе эксперимента выяснилось, что после курсового введения экстракта ГЛ регистрировалось достоверное снижение количества КД как в клетках крови, так и в плазме, при этом несколько уступая по эффективности препарату сравнения "Танакану". Установлено, что после применения экстракта ГЛ особенно низкий уровень МДА (на 12,2 %, $p \leq 0,05$ по сравнению с диабетическим контролем) отмечается в эритроцитах. В свою очередь на активность СОД изучаемый экстракт оказывал нормализующее действие в плазме крови, по величине активности не уступая танакану. Полученные результаты свидетельствуют о тенденции к восстановлению (в эритроцитах и плазме крови) дисбаланса между прооксидантами и антиоксидантной системой, который в различной степени выраженности сопровождался

ет дефицит инсулина или инсулинорезистентность, являющиеся одним из обязательных компонентов патогенеза сосудистых осложнений, и вполне согласуются с имеющимися литературными данными, а также результатами ранее проведенных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных экспериментальных исследований следует, что экстракт ГП при курсовом пероральном введении крысам со стрептозотосин-индуцированным сахарным диабетом проявляет антиоксидантные свойства, уменьшая образование как начальных, так и конечных продуктов перекисного окисления, а также увеличивает активность антиоксидантных ферментов в плазме крови крыс с экспериментальным диабетом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободно-радикального окисления и

антиоксидантной активности организма: метод. рекомендации. – СПб.: Фолиант, 2000. – 104 с.

2. Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Г., Мажуль Л. М. // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118–122.

3. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. // Вопр. мед. химии. – 1990. – Т. 36, № 2. – С. 88–91.

4. Костюк В. А., Потапович А. И., Лунец Е. Ф. // Там же. – 1984. – Т. 30, № 4. – С. 125–127.

5. Beauchamp C., Fridovich I. // *Analyt. Biochem.* – 1971. – Vol. 44, № 1. – P. 276–87.

6. Granich M. S. // *J. Insect Physiol.* – 1974. – Vol. 20. – P. 435–439.

7. Shanmugasundaram K. R. // *J. Ethnopharmacol.* – 1983. – Vol. 7. – P. 205–234.

8. Wang L. F. // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 76. – P. 1017–1023.

9. Prakash A. O. // *J. Ethno. Pharmacol.* – 1986. – Vol. 18. – P. 143–146.

10. Ogawa Y. // *Shokuhin. Eiseigaku. Zasshi.* – 2004. – Vol. 45. – P. 8–18.

11. Shanmugasundaram K. R. // *Pharmacol. Res. Commun.* – 1981. – Vol. 13. – P. 475–486.