

УДК 615.322:616.37:616.08

А. Л. Загайко, Е. И. Войтенко, В. П. Филимоненко, И. А. Колычев, О. Н. Кошевой
Национальный фармацевтический университет

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ЧЕРНИКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

Содержание животных на высококалорийной диете с добавлением фруктозы вызывает комплекс метаболических нарушений, характерных для метаболического синдрома и диабета 2 типа. Введение сухого экстракта черники оказывает выраженное нормализующее действие на все исследованные показатели: значительно снижается концентрация глюкозы, инсулина, гликозилированного гемоглобина, фруктозамина, ТАГ, а также улучшается соотношение уровней α -холестерина к β -холестерину. Протекторные эффекты экстракта черники связаны с высоким содержанием в листьях данного растения целого ряда фенольных соединений (антоцианидинов, дубильных веществ поликатехиновой природы, кверцетина, арбутина, хлорогеновой кислоты и др.), для которых показано гипогликемическое и антиоксидантное действие.

Ключевые слова: сахарный диабет; гипергликемия; инсулинорезистентность; инсулин; полифенольные соединения; экстракт листьев черники

ВСТУПЛЕНИЕ

Термин «сахарный диабет» (СД) объединяет группу синдромов, для которых характерны гипергликемия, нарушенный метаболизм липидов, углеводов и белков и высокий риск осложнений, связанный с поражением сосудов. СД и нарушение толерантности к глюкозе не только встречаются сами по себе, но и сопутствуют многим заболеваниям – так называемый «вторичный сахарный диабет».

Ослабление системы антиоксидантной защиты организма при СД приводит к активации перекисных механизмов [1, 4, 9], что наряду с гипергликемией и дислипидемией приводит к нарушению проницаемости фосфолипидной мембраны клеток периферических тканей, толерантности к инсулину, повреждению β -клеток островков Лангерганса и развитию макро- и микроангиопатии. Рядом экспериментальных работ было выявлено, что применение фитотерапии в комплексном лечении СД приводит к предупреждению развития заболевания и его осложнений. Препаратами выбора для профилактики и лечения СД и его осложнений являются природные биофлавоноиды [1]. Для этих веществ характерна высокая антирадикальная активность. Оптимальный эффект растительных АО проявляется при применении их в комплексе сопутствующих биологически активных веществ растительного сырья [7].

Природные антиоксиданты – флавоноиды в комплексе с другими растительными биологически ак-

тивными веществами оказывают гипогликемическое действие [6]. Интерес для исследования в качестве средства для применения при СД представляет черника обыкновенная – *Vaccinium myrtillus*. Применяют препараты листьев черники для снижения сахара в крови при СД в составе различных растительных сборов.

Целью настоящего исследования было изучение влияния экстракта сухого из листьев черники на развитие метаболических нарушений у крыс при экспериментальной инсулинорезистентности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили на 18-месячных белых рандомбредных самцах крыс массой 350-370 г. Инсулинорезистентность моделировали содержанием животных на диете, обогащенной фруктозой (60,3 % фруктозы, 18,3 % белка, 5,2 % жиров), которая сопровождается ожирением, нарушениями углеводного и липидного обменов [8]. Опытные животные были разделены на 3 группы: 1) интактные животные, которые содержались на стандартном рационе вивария НФаУ; 2) животные, которые содержались 12 недель на фруктозной диете; 3) животные, которые содержались 8 недель на фруктозной диете и ещё 4 недели на данной диете с ежедневным одноразовым внутрижелудочным введением экстракта сухого из листьев черники в дозе 9 мг общих полифенолов на 100 г массы тела. Данная доза была подобрана в предыдущих экспериментах как наиболее эффективная. Под хлоразоло-уретановым наркозом у животных брали кровь из верхней десны. При выполнении экспе-

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ВЫСОКОФРУКТОЗНОЙ ДИЕТЕ И/ИЛИ ВВЕДЕНИИ ИССЛЕДУЕМОГО ВЕЩЕСТВА (M ± m, n = 6)

Показатель	Интакт	Диета	Диета + черника
Глюкоза, ммоль/л	4,6 ± 0,1	11,2 ± 0,2*	8,2 ± 0,1*#
Инсулин, пг/мл	1265 ± 28	2675 ± 46*	2224 ± 27*#
Триацилглицерин, ммоль/л	0,87 ± 0,04	1,56 ± 0,07*	1,23 ± 0,06*#
α-Холестерин, ммоль/л	1,25 ± 0,03	1,19 ± 0,04	1,27 ± 0,08
β-Холестерин, ммоль/л	2,63 ± 0,05	3,64 ± 0,07*	3,19 ± 0,04*#
Гликозилированный гемоглобин	7,5 ± 0,5	9,0 ± 0,7*	8,4 ± 0,6*#
Фруктозамин	1,91 ± 0,12	3,52 ± 0,29*	2,45 ± 0,24*#

Примечание:

1) * – отклонение достоверно относительно интакта ($p \leq 0,05$);

2) # – отклонение достоверно относительно «Диеты» ($p \leq 0,05$).

риментов придерживались «Общих этических принципов экспериментов на животных» (Украина, 2001), гармонизированных с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985).

В качестве маркера степени компенсации углеводного обмена, качества лечения и риска развития отдаленных осложнений СД использовали уровень гликированного гемоглобина (HbA1c), концентрацию которого определяли иммунотурбидиметрическим методом. Уровень фруктозамина определяли спектрофотометрическим методом с использованием НСТ (нитросинего тетразолия), реактивы фирмы «Хоффманн – Ла Рош».

Содержание глюкозы, инсулина и триацилглицеролов (ТАГ) определяли с использованием стандартных наборов фирмы «Фелісіт-Діагностика» (Украина) и фирмы «Lachema» (Чехия). Концентрации α-холестерина и β-холестерина определяли с помощью стандартных ферментативных холестеролоксидазных наборов фирмы Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica (Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из результатов проведенных исследований, содержание крыс на обогащенной фруктозой диете вызывает почти трехкратное увеличение уровня глюкозы в сыворотке крови (табл.). В то же время наблюдается гиперинсулинемия (табл.), что при одновременной гипергликемии свидетельствует о нечувствительности клеток к инсулину, то есть о развитии инсулинорезистентности.

Как известно, фруктоза не вызывает усиления секреции инсулина, необходимого для утилизации других углеводов пищи, и в печени становится субстратом липогенеза [9]. Фруктозная нагрузка таким образом приводит к ускорению синтеза триацилглицеринів *de novo*, а также увеличению уровня свободных жирных кислот, которые могут активировать клю-

чевой фермент гликогенолиза – глюкозо-6-фосфатазу и тем самым увеличивать образование глюкозы в печени, что существенно влияет на увеличение гипергликемии [9].

Возрастание концентрации ТАГ (табл.), наблюдаемое через 6 недель эксперимента, является следствием мобилизации жира из жировой ткани и усиления эндогенного синтеза ТАГ и липопротеинов очень низкой плотности печенью из-за ослабления ингибирующего действия инсулина на липолиз. Уровень гликозилированного гемоглобина увеличивался по сравнению с контролем, т. к. это соединение образуется в результате неферментативной химической реакции гемоглобина А, содержащегося в эритроцитах, с глюкозой крови. Скорость и объем этой реакции зависят от среднего уровня глюкозы крови на протяжении жизни эритроцита.

Как видно из данных (табл.), происходит повышение концентрации глюкозы, гликозилированного гемоглобина и фруктозамина. Повышение средней концентрации глюкозы в крови приводит к повышению концентрации HbA1c на 20 %, а фруктозамина – на 84 %. Повышение концентрации фруктозамина в сыворотке крови экспериментальных животных также свидетельствует о нарушении регуляции гликемии инсулином. Помимо гемоглобина неферментативному гликозилированию в плазме крови подвергается и альбумин, в результате чего образуется фруктозамин. Таким образом, уровень гликированных белков, определяемый по содержанию фруктозамина, отражает средний уровень глюкозы в крови пациента на протяжении ранних сроков развития гипергликемии.

Поскольку скорость образования HbA1c зависит от величины гипергликемии, а нормализация его уровня в крови происходит через 4-6 недель после достижения эугликемии, содержание гликогемоглобина является адекватным показателем компенсации углеводного обмена у больных диабетом на протяжении длительного времени, и возрастание его уровня, от-

меченное и в нашем эксперименте, свидетельствует о большем риске развития ретинопатии, нефропатии и других осложнений диабета [5].

Падение уровня α -холестерина и повышение содержания β -холестерина у животных группы модельной патологии (табл.), очевидно, связано с усилением переноса эфиров холестерина от ЛПВП к атерогенным АпоВ-ЛП и обусловлено накоплением ТАГ. В результате этих и других изменений развивается атерогенная дислипидемия [3].

Таким образом, содержание животных на высококалорийной диете с добавлением фруктозы вызывает комплекс метаболических нарушений, характерных для метаболического синдрома и диабета 2 типа.

В то же время, введение сухого экстракта черники оказывает выраженное нормализующее действие на все исследованные показатели: значительно снижается концентрация глюкозы, инсулина, гликозилированного гемоглобина, фруктозамина, ТАГ, а также улучшается соотношение уровней α -холестерина к β -холестерину (табл.).

Установленные протекторные эффекты экстракта черники, по-видимому, связаны с высоким содержанием в листьях данного растения целого ряда фенольных соединений (антоцианидинов, дубильных веществ поликateхиновой природы, кверцетина, арбутина, хлорогеновой кислоты и др.), для которых показано гипогликемическое и антиоксидантное действие [7].

Механизм гипогликемического действия полифенольных соединений, согласно данным литературы, связан с их влиянием на транспорт глюкозы в клетки. Главную роль в антидиабетическом действии экстрактов из листьев черники в последнее время отводят миртиллин и неомиртиллин. Последние представляют собой смесь эфиров дельфинидина и мальвидина, которые повышают чувствительность клеток к инсулину и улучшают функционирование поджелудочной железы [6].

В частности, известно, что в стимулированном инсулином поступлении глюкозы в клетки ключевую роль играет переносчик глюкозы GLUT4, который при необходимости транслоцируется из цитозоля к плазматической мембране. Активации GLUT4 предшествует взаимодействие инсулина со специфическим рецептором, активация тирозинкиназы и ФИ-3-киназы [10]. Однако показано, что транслокация GLUT4 также может быть инициирована посредством p38 MAPK-сигнального каскада, в который вовлечены PKB, Akt, p38 MAPK. Антоцианидины индуцируют аутофосфорилирование инсулинового рецептора, активируют PKB, Akt, p38 MAPK [10]. Согласно данным литературы катехин, как в опытах *in vivo*, так и *in vitro* снижает содержание глюкозы, усиливает поступление глюкозы в клетки, стимулирует синтез гликогена, а также окисление глюкозы [3]. Катехин усиливает как синтез мРНК GLUT4, так и про-

цессы трансляции, что приводит к увеличению числа GLUT4. В результате такого действия кверцетин значительно снижает содержание триацилглицеринов и свободных жирных кислот в сыворотке крови крыс, а также пролонгирует проведение инсулинового сигнала путем увеличения активности тирозинкиназы и снижения активности тирозинфосфатазы в клетках-мишенях инсулина, может также увеличивать количество рецепторов к инсулину на поверхности клеток [6]. Кверцетин также ускоряет использование глюкозы в клетках печени и скелетных мышц путем активации ключевых ферментов гликолиза – гексокиназы и пируваткиназы, снижает активность гликогенфосфорилазы и стимулирует образование гликогена в клетках печени и скелетных мышц у животных с экспериментальным СД2. Кроме того, процианидины, содержащиеся в исследуемом экстракте, являются ингибиторами β -глюкозидазы и сахаразы, поэтому данные концентраты тормозят гидролиз углеводов в ЖКТ и, как следствие, снижают образование и всасывание глюкозы в кишечнике [6].

Немаловажный вклад в наблюдаемые эффекты вносят и мощные антиоксидантные свойства полифенолов черники. Гипергликемия неминуемо сопровождается интенсивным образованием свободных радикалов и активацией свободнорадикальных процессов, усугубляя повреждение органов и тканей.

ВЫВОДЫ

1. Содержание животных на высокофруктозной диете сопровождается комплексом метаболических нарушений, характерных для метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа.
2. Лечебно-профилактическое применение сухого экстракта листьев черники оказывает нормализующее влияние на показатели гликозилирования, а также на уровень глюкозы и показатели липидного обмена в сыворотке крови исследованных животных, что свидетельствует о целесообразности более глубокого изучения данного экстракта с целью создания на его основе средства для коррекции сахарного диабета 2 типа.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Балаболкин М. И. Эндокринология: [учебник]. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Универсум пубблишинг, 1998. – 416 с.
2. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Антиоксиданты в лечении и профилактике сахарного диабета. – www.diabet.ru. Сахарный диабет. – 2001. – № 1.
3. Джафарова Р. Э. Исследование гипогликемического действия некоторых лекарственных растений, содержащих флавоноиды / Р. Э. Джафарова // Проблемы физиол. и биохимии. – 2008. – Т. 26. – С. 237-248.
4. Загайко А. Л. Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної тера-

- пії: [монографія] / А. Л. Загайко, Л. М. Вороніна, К. В. Стрельченко. – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2007. – 216 с.
5. Ильин А. В. Гликозилированный гемоглобин как ключевой параметр при мониторинге больных сахарным диабетом / А. В. Ильин, М. И. Арбузова, А. П. Князева // Сахарный диабет. – 2008. – № 2. – С. 60-64.
 6. Макарова М. Н. Антирадикальная активность флавоноидов и их комбинаций с другими антиоксидантами / М. Н. Макарова, В. Г. Макаров, И. Г. Зенкевич // Фармация. – 2004. – № 2. – С. 30-32.
 7. Рязанова Т. К. Фармакологическое исследование плодов и побегов черники обыкновенной / Т. К. Рязанова // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 8, Ч. 5. – С. 1136-1140.
 8. Строев Е. А. Практикум по биологической химии / Е. А. Строев, В. Г. Макарова. – М.: Высш. шк., 1986. – 231 с.
 9. Altas M. Endothelial dysfunction in high fructose containing diet fed rats: increased nitric oxide and decreased endothelin-1 levels in liver tissue / [M. Altas, A. Var, K. Ozbilgin et al.] // Dicle University Med. School. – 2010. – Vol. 37, № 3. – P. 193-198.
 10. Saifa F. Flavanoid and antioxydant agents: importance of their interaction with biomembranes / [F. Saifa, M. Skalese, V. Lanza et al.] // Free Radical Biol. Med. – 1995. – Vol. 19, № 4. – P. 481-486.

УДК 615.322:616.37:616.08

А. Л. Загайко, О. І. Войтенко, В. П. Филімоненко, І. А. Количев, О. М. Кошевой

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ЧОРНИЦІ НА ПОКАЗНИКИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Утримання тварин на висококалорійній дієті з додаванням фруктози викликає комплекс метаболічних порушень, характерних для метаболічного синдрому і діабету 2 типу. Введення сухого екстракту чорниці чинить виражену нормалізуючу дію на усі досліджувані показники: значно знижується концентрація глюкози, інсуліну, глікозилизованого гемоглобіну, фруктозаміну, ТАГ, а також покращується співвідношення рівнів α -холестерину до β -холестерину. Протекторні ефекти екстракту чорниці пов'язані з високим вмістом в листі цієї рослини цілого ряду фенольних сполук (антоціанідинів, дубильних речовин полікатехінової природи, кверцетину, арбутину, хлорогенової кислоти тощо), для яких показана гіпоглікемічна і антиоксидантна дія.

Ключові слова: цукровий діабет; гіперглікемія; інсулінорезистентність; інсулін; поліфенольні сполуки; екстракт листя чорниці

UDC 615,322: 616.37: 616.08

A. L. Zagayko, E. I. Voitenko V. P. Fylymonenko, I. A. Kolychev, O. N. Koshevoy

EFFECT OF BLUEBERRY LEAF EXTRACT ON THE PERFORMANCE OF AN EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES

Keeping animals on a high-calorie diet with the addition of fructose causes complex metabolic disorders specific to metabolic syndrome and type 2 diabetes. Introduction of dry Blueberry extract has expressed a normalizing effect on all parameters studied: significantly reduced the concentration of glucose, insulin, glycosylated hemoglobin, fructosamine, TAG, as well as improving the ratio of α -cholesterol levels to β -cholesterol. Blueberry extract protective effect associated with a high content in leaves of this plants of a number of phenolic compounds (anthocyanidins, tannins polikatehinic nature, quercetin, arbutin, chlorogenic acid, et al.), for which it is showed antioxidant and hypoglycemic action.

Key words: diabetes mellitus; hyperglycemia; insulin resistance; insulin; polyphenolic compounds; blueberry leaf extract

Адрес для переписки:
61002, г. Харьков, ул. Мельникова, 12.
Тел. (факс): 8(057)7063099.
Национальный фармацевтический университет

Поступила в редакцию
05.12.2014 г.