

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ЭЛЕУТЕРОКОККА НА ПОКАЗАТЕЛИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ГИПЕРФАГИИ

О.И. Губич, Т.Н. Зырянова, Т.Н. Мамай, И.В. Колесник

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь,

e-mail: Hubich_Oksana@tut.by

Введение

По последним оценкам Всемирной организации здравоохранения, избыточным весом в современном мире страдают примерно 1,5 миллиарда взрослых людей и около 20 миллионов детей в возрасте до 8 лет [1]. Данная проблема, первоначально наиболее остро стоявшая перед здравоохранением США, где избыточным весом страдают примерно две трети населения, все больше охватывает европейские страны. Так, на Кипре, Мальте, в Чехии, Финляндии, Германии и Словакии больше 40% населения имеют диагноз «ожирение». В странах СНГ избыточным весом страдает от 35% до 50% населения [1].

Причины данной патологии весьма разнообразны, однако отмечается возрастание вклада несбалансированного питания и переедания в ее этиологическую картину. Примерно в 30–40% случаев у больных с ожирением регистрируются те или иные пищевые нарушения, среди которых наиболее часто встречается гиперфагическая реакция на стресс, предменструальная гиперфагия, компульсивная гиперфагия и ночная гиперфагия. Механизмы возникновения пищевых нарушений до конца не установлены. Полагают, что они могут быть связаны с избыточной секрецией нейропептида Y в ядре воронки, повреждением вентромедиального и паравентрикулярного ядер гипоталамуса, приемом некоторых лекарственных средств [2]. В ряде случаев гиперфагия является результатом низкой пищевой культуры пациента [3]. Подобные пищевые нарушения представляют собой весьма серьезную проблему для лечения ожирения, поскольку питание таких больных носит императивный характер и распространяется, как правило, именно на продукты с высоким содержанием углеводов, которые в больших количествах употреблять нежелательно. У таких пациентов повышен риск рецидива после успешного курса по снижению веса [4]. Таким образом, вопрос регуляции пищевых нарушений, как и проблема коррекции физиолого-биохимических нарушений, вызванных хроническим перееданием и несбалансированным питанием представляют важный научный и практический интерес. Этот интерес усиливается и тем, что гиперфагия и сопровождающее ее ожирение часто приводит к серьезным осложнениям, в числе которых находятся сахарный диабет второго типа, заболевания сердечно-сосудистой системы и желчного пузыря [4].

В этой связи особое внимание привлекает возможность использования в вышеописанных случаях препаратов, относящихся к фармакологической группе адаптогенов. Известно, что данные вещества при систематическом приеме способны не только повышать неспецифическую сопротивляемость организма к широкому спектру вредных воздействий физической, химической и биологической природы, но и обеспечивать регуляцию азотистого, углеводного, липидного и белкового обменов, а также способствовать снижению окислительного стресса, повышая активность антиоксидантных систем в норме и при патологиях различной этиологии [5].

Принимая во внимание все вышесказанное, целью настоящей работы явилось изучение возможности коррекции экстрактом элеутерококка нарушения углеводного обмена, интенсивности процесса перекисного окисления липидов и функционирования антиоксидантной защиты у крыс с экспериментальной гиперфагией.

Методы исследования

Работа выполнялась на беспородных белых крысах массой 200–250 г, содержащихся на стандартном рационе вивария БГУ. Все эксперименты выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с животными, а также правилами проведения работ с использованием лабораторных животных в научных исследованиях на биологическом факультете БГУ.

При проведении исследований все животные были разделены на 6 экспериментальных групп:

Группа №1: интактные животные.

Группа №2: экспериментальная модель аллоксан-индуцированного сахарного диабета (100 мг аллоксана/кг однократно внутривенно). Забой – через 7 дней после введения.

Группа №3: гиперфагия («ресторанная диета»). Продолжительность рациона – 7 дней.

В работе использована традиционная ресторанный диета, описанная в [6]. Указанная диета содержала 25% жиров и 30% легкоусвояемых углеводов. Среднее энергопотребление у крыс, находящихся на данной диете, составляет 108 ккал в день. Состав диеты включал на 1 крысу/день: белый хлеб – 5 г, шоколадное печенье – 5 г, сырные крекеры – 5,5 г, картофельные чипсы – 5 г, нежирный творог – 10 г, регулярное питание стандартного рациона. Вышеперечисленные продукты в измельченном виде были предоставлены крысам как постоянный выбор.

Группа №4: введение спиртового раствора элеутерококка перорально в течение 7 суток по 20 мкл.

Группа №5: введение спиртового раствора элеутерококка (20 мкл/кг перорально) крысам с аллоксан-индуцированным экспериментальным диабетом. Продолжительность введения – 7 дней.

Группа №6: введение спиртового раствора элеутерококка перорально по 20 мкл в течение 7 суток крысам, находящимся на «ресторанной диете».

По истечении указанного времени крыс умерщвляли декапитацией и измеряли активность амилазы, содержание пирувата, глюкозы и мочевины в сыворотке крови. Определение активности α -амилазы проводили по методу Каравая [7]. Определение пировиноградной кислоты в крови осуществлялось модифицированным методом Умбрайт [7], определение мочевины крови – уреазным методом [7], определение глюкозы – антроновым методом [7]. Во всех экспериментальных сериях в гомогенатах печени было определено содержание вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность ферментов антиоксидантной системы. Количество малонового диальдегида (МДА) определяли в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [8], активность каталазы – спектрофотометрически по убыли пероксида водорода [9], активность супероксиддисмутазы (СОД) – по реакции окисления кверцетина [10]. Определение содержания белка проводили биуретовым методом [7]. Математический анализ и статистическую обработку результатов проводили с использованием лицензионного пакета программ Stadia 6.0.

Результаты и обсуждение

Начальный этап нашей работы был посвящен непосредственно исследованию влияния высококалорийного питания с преобладанием легкоусвояемых углеводов на регистрируемые показатели углеводного обмена. Установлено, что семидневное несбалансированное питание оказывает на метаболизм углеводов экспериментальных животных выраженное негативное влияние. Так, активность панкреатической α -амилазы в крови животных возросла почти в 2 раза по сравнению с контрольной серией, наблюдалось значительное достоверное (+71% к контролю) увеличение содержания ПВК, уровень глюкозы в крови превышал контрольные значения в 2,74 раза. Вместе с тем, фиксировалось снижение концентрации мочевины на 78,8% к контролю, что может свидетельствовать о понижении интенсивности азотистого обмена (таблица 1). В этих же условиях эксперимента выявлено ингибирование активности каталазы на 52%, СОД – на 45%. Количество МДА повысилось на 28% (таблица 2).

Полученные изменения связаны, вероятно, с развивающимся при гиперфагии окислительным стрессом [11].

Таблица 1 – Величины показателей углеводного обмена в сыворотке крови крыс в зависимости от серии эксперимента

| Серия | Показатели углеводного обмена | | | |
|--|-------------------------------|--|---|--|
| | Содержание ПВК, мг X± Sx | Активность α-амилазы, г крахмала/лч X± Sx | Концентрация мочевины, ммоль/л X± Sx | Концентрация глюкозы, ммоль/л X± Sx |
| Интактные крысы | 0,69±0,08 (100 %) | 117,6±3,8 (100 %) | 4,52±0,47 (100 %) | 127,7±20,4 (100 %) |
| Модель аллоксанового диабета | 0,79±0,04 (114,5 %) | 148,0±5,1* (125,8 %) | 9,65±0,58* (213,5 %) | 370±22,7* (289 %) |
| Модель гиперфагии | 1,18±0,16* (171 %) | 214,1±0,01* (181,9 %) | 3,56±0,22* (78,8 %) | 350±77,6* (274 %) |
| Спиртовой препарат элеутерококка (20 мкл/сут, 7 суток) | 0,94±0,15* (136 %) | 125,4±27,3 (106,6 %) | 4,3±1,15 (95,1 %) | 115,5±10,4 (90,1 %) |
| Аллоксановый диабет + препарат элеутерококка (20 мкл/сут, 7 суток) | 0,93± 0,13* (134%) | 179,7±3,9* (152,8%) | 2,2±0,14* (48,7%) | 109,2 ±7,7 (85%)* |
| Гиперфагия + препарат элеутерококка (20 мкл/сут, 7 суток) | 1,13±0,21 (163,8 %) | 189,6±4,1* (161,2 %) | 2,6±0,25* (57,5 %) | 248,8±25,9* (195 %) |

Примечание: * – результаты достоверны при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Таблица 2 – Изменение показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в гомогенате печени крыс в зависимости от серии эксперимента

| Серия | Активность каталазы, ммоль/мг белка мин X± Sx | Активность СОД, у.е./мг белка X± Sx | Содержание ТБК-активных продуктов, нмоль/мг белка X± Sx |
|--|--|--|--|
| Интактные крысы | 16,6±4,7 100% | 0,78±0,18 100% | 0,61±0,03 100% |
| Модель аллоксанового диабета | 8,7±2,2* 52% | 0,20±0,15* 26% | 0,75±0,04* 122% |
| Модель гиперфагии | 7,9±1,7* 48% | 0,47±0,27* 60% | 0,78±0,02* 128% |
| Препарат элеутерококка (20 мкл/сут, 7 суток) | 18,8±1,1 113% | 0,71±0,05 91% | 0,63±0,04 103% |
| Аллоксановый диабет + препарат элеутерококка (20 мкл/сут, 7 суток) | 9,7±1,5* 58% | 0,36±0,06* 46% | 0,63±0,15 109% |
| Гиперфагия + препарат элеутерококка (20 мкл/сут, 7 суток) | 10,7±1,7* 65% | 0,51±0,03* 65% | 0,71±0,05 116% |

Примечание: * – результаты достоверны при уровне значимости $p \leq 0,05$.

С целью сравнения ответной реакции организма со стороны углеводного, азотистого обменов и процессов ПОЛ на получение животными легкоусвояемых углеводов была проведена экспериментальная серия с введением лабораторным животным аллоксана (100 мг/кг), широко используемого для моделирования у животных сахарного диабета. Как свидетельствуют представленные в таблице 1 результаты, развитие сахарного диабета у крыс сопровождалось повышением уровня глюкозы в крови на 189%, активности α-амилазы – на 25,8%, концентрации мочевины – на 113,5%, а также тенденцией к увеличению содержания

ПВК в сыворотке, что хорошо согласуется с данными литературы [12]. Наряду с этим наблюдалось значительное снижение активности ферментативной антиоксидантной системы. Так, уменьшение активности каталазы составило 48% по сравнению с контролем, СОД – 74%. Содержание МДА увеличилось на 44% (таблица 2). Данные изменения связаны со способностью аллоксана вызывать деструкцию β -клеток панкреатических островков, нарушать гомеостаз внутриклеточного кальция, дестабилизировать мембраны митохондрий, а также стимулировать окислительно-восстановительные реакции с образованием пероксидных и гидроксил-радикалов [12].

Использованная нами модель гиперфагии, создаваемая легкоусвояемой диетой, вызывала изменения исследуемых показателей в сыворотке крови и гомогенате печени, сопоставимые с таковыми, выявленными на модели аллоксанового диабета, либо превосходящие их по некоторым параметрам. Сравнение двух моделей свидетельствует о разносторонних биохимических нарушениях, вызванных хроническим переизбытком и несбалансированным питанием.

Следующий этап настоящей работы был посвящен изучению влияния перорального введения аптечного препарата экстракта элеутерококка (20 мкл/крыса) на исследуемые показатели intactных крыс. Установлено, что ежедневное пероральное введение препарата элеутерококка крысам в течение 7 суток не сопровождалось изменением показателей углеводного обмена, за исключением некоторого увеличения содержания ПВК в крови (+36,1% к контролю). Активность α -амилазы, а также содержание мочевины и глюкозы в сыворотке крови крыс находилась на уровне, соответствующем контролю. Не наблюдалось и статистически значимых отклонений как в активности антиоксидантной системы печени, так и в содержании ТБК-активных продуктов (таблицы 1, 2). Полученные данные не противоречат описанной в литературе информации о малой токсичности экстракта из корней элеутерококка (LD_{50} для крыс при внутрибрюшинном введении составляет 14,5 г/кг), отсутствии тератогенного действия при длительном применении в эксперименте и возможности снижения им токсичности индола, 6-меркаптопурина, сарколизина, рубомицина С [13, 14]. Более того, в литературе описана возможность повышения качества жизни больных сахарным диабетом при назначении им экстракта элеутерококка в дозе 40 капель 3 раза в день до еды в течение 10–14 дней. В результате подобного лечения отмечалось понижение содержания глюкозы в крови на 15–25 % у больных легкой формой диабета [14, 15]. В эксперименте пероральное введение элеутерококка крысам на фоне аллоксана способствовало стабилизации параметров углеводного обмена (таблица 1). Так, концентрация глюкозы в сыворотке крови снизилась в 3,2 раза по сравнению с серией крыс, страдающих аллоксановым диабетом, а концентрация мочевины – в 2,3 раза. Наблюдалось также снижение содержания вторичных продуктов ПОЛ и повышение активности каталазы и СОД (таблица 2).

На следующем этапе нашей работы мы обратились к изучению возможности коррекции различных биохимических нарушений путем ежедневного перорального введения настойки элеутерококка крысам, находящимся на «ресторанной диете». Показано, что в присутствии используемого адаптогена активность α -амилазы в крови крыс снижается на 20%, а концентрация мочевины, равно как и глюкозы – в 1,4 раза (таблица 1). Введение элеутерококка изменяло и активность антиоксидантной системы: активность каталазы повышалась на 17%, активность СОД имела тенденцию к повышению по сравнению с аналогичной активностью у крыс, находящихся на несбалансированной диете. Отмечено также снижение уровня ТБК-активных продуктов при спонтанном ПОЛ (таблица 2).

Таким образом, экстракт элеутерококка оказывает частично стабилизирующее действие на обмен веществ не только при экспериментальном аллоксановом диабете, но и при описанном варианте гиперфагии. Подобное действие элеутерококка может быть обусловлено наличием в его составе особого вида гликозидов, называемых элеутерозидами, обладающих способностью увеличивать проницаемость клеточных мембран для глюкозы [15],

стимулирующим действием на гексакиназную реакцию, обеспечивающую интенсивное поступление углеводов в клетку [16], общестимулирующим действием элеутерококка [17].

Выводы

Подытоживая результаты проведенной работы, можно заключить, что аптечный препарат элеутерококка колючего обладает корректирующим действием на показатели углеводного и азотистого обменов, а также на активность ферментов антиоксидантной защиты и накопление вторичных продуктов ПОЛ у экспериментальных животных, находящихся на высококалорийной несбалансированной углеводной диете.

Список литературы

1. Алмазов, В.А. Клиническая патофизиология / В.А. Алмазов. – Питер: Санкт-Петербургский гос. мед. университет им. И. П. Павлова, 1999. – С. 209 – 213.
2. Михайлов, В.В. Основы патологической физиологии: Руководство для врачей / В.В. Михайлов. – М.: Медицина, 2001. – С. 117 – 124.
3. Бочков, Н.П. Справочник врача общей практики / Н.П. Бочков, В.А. Насонова. – М.: Изд. ЭКСМО-Пресс, 2002. т.2. – 992 с.
4. Галкин, В.А. Внутренние болезни / В.А. Галкин. – М.: Медицина, 1987. – 400 с.
5. Wellman, N.S. Causes and consequences of adult obesity: health, social and economic impacts in United States / N.S. Wellman, B. Friedberg // *Asia Pacific J. Clin. Nutr.* – 2002. – Vol. 11. – P. 705 – 709.
6. Молоковский, Д.С. Патогенетические основы применения адаптогенных фитопрепаратов и их биологическая активность при различных патологических состояниях: автореф. дисс. доктора мед. наук / Д.С. Молоковский, С.-Пб., 2004. – 25 с.
7. Камышников, В.С. Справочник по клинической химии / В.С. Камышников, В.Г. Колб. – Минск: Беларусь, 1982. – 366 с.
8. Стальная, И.Д. Современные методы в биохимии / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили. – М.: Высшая школа, 1977. – 116 с.
9. Aebi, H. *Methods in Enzymology* / H. Aebi. – N.Y.: Acad. Press, 1984. – 126 p.
10. Костюк, В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.Н. Потапович // *Вопросы мед. химии.* – 1990. – Т. 36, №2. – С. 121 – 126.
11. Егорова, М.О. Биохимический контроль сахарного диабета / М.О. Егорова. – М.: Изд-во НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2002. – 15 с.
12. Писарев, В.Б. Клеточная гибель β -эндокриноцитов панкреатических островков, обусловленная аллоксановой цитотоксичностью / В.Б. Писарев, Г.Л. Снигур, А.А. Спасов // *Бюллетень Волгоградского научн. центра РАМН.* – 2008. – №4. – С. 24–25.
13. Трахтенберг, И.М. Проблема нормы в токсикологии / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель. – М.: Медицина, 1991. – 204 с.
14. Турова, А.Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А.Д. Турова. – С.-Пб.: Нева, 1991. – 378 с.
15. Аметов, А.С. Инсулиннезависимый сахарный диабет: основы патогенеза и терапии / А.С. Аметов, А.М. Грановская-Цветкова, Н.С. Козей. – М.: Рос. Мед. Академия Минздрава РФ, 1995. – 64 с.
16. Дубинина, И.И. Биохимические аспекты полиэндокринологии (эпидемиология, клиника, диагностика, лечение): автореф. дисс. канд. биол. наук / И.И. Дубинина. – Рязань: Рязанский гос. мед. университет им. И.П. Павлова, 1996. – 65 с.

**THE INVESTIGATION OF ELEUTEROCOCCUS EXTRACT INFLUENCE
ON THE PARAMETERS OF CARBOHYDRATES METABOLISM AND
PEROXYDATIVE STRESS IN RATS UNDER EXPERIMENTAL HYPERPHAGIA**

A.I. Hubich, T.N. Zyranava, T.N. Mamay, I.V. Kalesnik

Belarusian State University, Minsk, Belarus

The main purpose of this work is to investigate the possibility of metabolic imbalance correction and a decrease peroxydative stress by eleuterococcus extract in rats under experimental hyperphagia. At first it was shown that septan unbalanced high-calorie diet with a predominance of digestible carbohydrates causes an increase of α -amylase activity by 2 times, increase of pyruvate concentration in blood by 71% to control and glucose concentration – by 2,74 times. At the same time a blood urea concentration was decreased by 78,8%, catalase activity in rat liver was inhibited by 52,0%, superoxide dismutase activity – by 45,0%. The maintenance of malonic dialdehyde rised by 28,3% to control. So, hyperphagia was accompanied by imbalance in carbohydrates metabolism and peroxydative stress. Remarkably that these damages were more commensurable that the same in rats under experimental alloxan-induced diabetes.

The next stage of our work was devoted to the investigation of an effect of pharmaceutical eleuterococcus extract (20 μ l/rat, per os, 7 days) on biochemical markers of carbohydrates metabolism and peroxydative stress in experimental animals. It was determined that under such conditions the investigated parameters (α -amylase, superoxide dismutase and catalase activities, glucose and blood urea concentration, malonic dialdehyde maintenance) were not changed with the exception of pyruvate concentration that was increased by 36,1% to control.

Moreover, oral introduction of eleuterococcus extract has promoted to the stabilization of carbohydrates metabolism. So, glucose concentration in rat blood was decreased by 3,2 times to the parameter in rats with alloxan-induced diabetes, a blood urea concentration – by 2,3 times. It was also revealed a reliable reduction of malonic dialdehyde maintenance and a reliable rise of catalase and superoxide dismutase activities in rat liver.

At the terminal stage of this work we studied the possibility of metabolic imbalance correction by everyday oral introduction of eleuterococcus extract in rats under experimental hyperphagia. It was ascertained that the tested adaptogen reduced glucose and a blood urea concentrations by 1,4 times, α -amylase activity – by 20,1%. There was also a tendency to stabilization of qualitative characteristics of peroxydative stress.

To sum up the results of this investigation it is impossible not to admit that the eleuterococcus extract has a partially stabilizing influence upon metabolic balance and peroxydative stress intensity under experimental diabetes and experimental hyperphagia. Such ability may be conditioned by the presence of special type of glycosides (eleuterosides), which are able to rise the permeability of cellular membranes for glucose, to activated hexokinase reactions and by the stimulative effects of eleuterococcus on total metabolism.