

Исследование влияния экстракта *Morus alba* на течение экспериментального сахарного диабета

Р.Э.Джафарова

Азербайджанский медицинский университет
Баку, Азербайджан

Ввиду сложности этиопатогенеза сахарного диабета необходима разработка новых, более эффективных патогенетически обоснованных подходов к терапии данной патологии. Особый интерес представляют лекарственные растения, содержащие комплекс биологически активных веществ, оказывающих не только сахаропонижающее действие, но и благотворно влияющие на общее состояние больных. В данной работе представлены результаты действия экстракта листьев шелковицы белой на состояние углеводного и липидного обмена, на процессы перекисного окисления липидов, биохимические показатели функционального состояния печени и почек на фоне экспериментального аллоксанового диабета. Полученные результаты плацебоконтролируемых исследований дают основание утверждать, что исследуемый препарат статистически достоверно в крови аллоксаниндуцированных крыс компенсирует метаболические расстройства, оказывая гипогликемическое и гиполипидемическое действие и снижает уровень оксидативного стресса.

Ключевые слова: сахарный диабет, лекарственные растения, флавоноиды.

ВВЕДЕНИЕ

Гипергликемия, дислипидемия, оксидативный стресс — основные факторы, ведущие к прогрессированию атеросклероза и риску летальности при сахарном диабете (СД). Снизить прогрессирование атеросклероза и летальность при СД можно лишь при комплексном подходе к терапии. Наряду с компенсацией углеводного обмена необходима коррекция дислипиде-

мии, стабилизация массы тела, нормализация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), что в конечном итоге приводит к нормализации изменений, неизбежно возникающих при СД в сердечно-сосудистой системе, печени, почках [1].

Учитывая необходимость фитотерапии при СД, для обеспечения рационального использования растительных препаратов необходимо всестороннее исследование их антидиабетического действия. Флавоноидсодержащие растения — источники природных антиоксидантов. Комплекс биологически активных веществ некоторых из них оказывает гипогликемическое действие. Шелковица белая — один из перспективных видов растений в этом аспекте.

Целью исследования было выявить действие экстракта шелковицы белой на течение патологического процесса при аллоксан-индуцированном СД, а также некоторые механизмы гипогликемического эффекта.

Шелковица белая — *Morus alba*. Семейство Тутовые — Moraceae.

Химический состав листьев шелковицы мало изучен, из биологически активных веществ обнаружены флавоноиды — классические антиоксиданты. В традиционной медицине листья шелковицы используют при легких формах диабета. В наших исследованиях было выявлено, что галеновые препараты растения достоверно снижают содержание сахара в крови подопытных животных [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовались половозрелые белые беспородные крысы-самцы массой тела 200–280 г. После предварительной 24-часовой голодовки тест-методом определяли сахар в крови животных, затем взвешивали и вводили раствор аллоксана тригидрата («La Chema», Чехия) в дозе 200 мг/кг. Контрольные животные полу-

чали эквивалентную инъекцию физиологического раствора натрия хлорида. По истечении 10 суток, предварительно определив вес и сахар в крови, составили группы по 10 животных в каждой. Далее в течение двух недель животным в соответствующих дозах вводили экстракт листьев шелковицы, контрольная группа животных получала эквивалентную инъекцию физиологического раствора натрия хлорида. На 15-е сутки после предварительной 24-часовой голодовки животных взвешивали и затем, декапитировав, забирали кровь и органы на анализ для определения содержания сахара, продуктов липидного обмена, ПОЛ, биохимических показателей функционального состояния печени и почек.

Содержание сахара в крови определяли при помощи индикаторной бумаги ІМЕ-DC тест-анализатором и ферментативным колориметрическим методом без депротеинизатора (GOD-PAF), реактив «Глюкоза — Human», анализатор ФП-901 при длине волны 500 нм.

Содержание в крови триглицеридов, липопротеинов, холестерина, свободных жирных кислот определяли ферментативным колориметрическим методом набором химических реактивов производства «Human» (Германия). Анализатор ФП-901 при длине волны 500 нм.

На анализаторе Stat Fax, chem.-well набором химических реактивов производства «Human» (Германия) определяли содержание общего билирубина при длине волны 546 нм, аланинаминотрансферазы при длине волны 340-365 нм, аспартатаминотрансферазы при длине волны 340-365 нм, глутаминтрансферазы при длине волны 400-420 нм, общего белка при длине волны 540-560 нм, креатинина при длине волны 490-510 нм, мочевой кислоты при длине волны 520-546 нм.

Выраженность окислительного стресса определяли по концентрации диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови и тканях печени, сердца, почек, поджелудочной железы [7].

Статистическую обработку полученных результатов проводили параметрическим методом с использованием t-критерия Стьюдента и непараметрическим определением значений U для критерия Вилкоксона-Манна-Уитни [3, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При введении аллоксана крысам, наряду с гипергликемией, развивается умеренная гиперлипидемия, что связано как с нарушением гликолиза так и, усилением свободнорадикального окисления (СРО) липидов.

Мониторинг динамики содержания сахара в крови подопытных животных после введения им аллоксана показал, что наблюдаемая уже со 2-х суток гипергликемия на 10-е сутки превышает интактные показатели содержания сахара в крови на 370,7%. Остроту протекающего процесса характеризует и летальность крыс: в соответствующий период после индукции диабета из 315 крыс в живых осталось 128, что составляет 59,4%. В последующие сроки экспериментального диабета сахар в крови животных начинает постепенно снижаться, наступает период компенсации, что связано с частичной регенерацией β -клеток [2]. После индукции аллоксана активируются свободнорадикальные реакции. Резко возрастает количество первичных и вторичных продуктов СРО липидов в плазме крови и тканях, которая в зависимости от САЗ ткани выражена в различной степени (табл. 2).

В острый период экспериментального диабета поражение печени и в том числе его холестеринобразующей функции приводит к снижению общего холестерина на 44%, а затем в период компенсации концентрация циркулирующего в крови холестерина начинает расти, развивается гиперхолестеринемия [9]. Как известно, перекиси липидов ингибируют активность ключевого фермента катаболизма холестерина-7- α -гидроксилазы, что в конечном итоге приводит к развитию гиперлипидемии [4].

Содержание в крови животных холестерина, забитых на 10-е сутки после индукции диабета, превышает интакт на 13,7%, ЛПНП — на 29,2%, липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) — на 59,2%, а свободных жирных кислот (СЖК) — на 51,1%. При этом содержание липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) снизилось на 37,7%. После введения животным с аллоксаниндуцированным диабетом в течение 15 дней экстракта листьев шелковицы белой эти показатели относительно соответствующих показателей на 10-е сутки после введения аллоксана изменились следующим образом: сахар снизился на 75,5%, концентрация триглицеридов — на 51,8%, холестерина — на 8,2%, ЛПНП — на 20,5%, ЛПОНП — на 17,8%, СЖК — на 68,7%. Содержание ЛПВП увеличилось на 55,3%, тогда как эти показатели в группе, получавшей эквивалентную инъекцию физиологического раствора натрия хлорида, имели соответственно следующие значения: сахар снизился на 66,7%, концентрация триглицеридов — на 41,3%, холестерина — на 6,8%, ЛПНП — на 8,0%, ЛПОНП — на 21,3%, а СЖК — на 17,2%. Содержание ЛПВП увеличилось на 19,0%, и только на 25-е сутки эти показатели стали близки к показателям группы

ТАБЛИЦА 1

Показатели влияния экстракта листьев шелковицы белой на содержание в крови сахара, холестерина, липидов и жирных кислот на фоне аллоксанового диабета

| Показатели | Группы животных | | | |
|---------------------|---------------------------|-----------------------------------|---|-------------------------------------|
| | Интактные, n=5 | Аллоксановый диабет (модель), n=5 | Аллоксановый диабет + плацебо (контроль), n=5 | Аллоксановый диабет + препарат, n=5 |
| Сахар, мг/дл | 111,8±1,46 (108-115) | 526,2±3,76** (518-539) | 175,2±4,409** (162-187) | 129±2,68** (123-139) |
| Триглицериды, мг/дл | 37,22±1,47 (33,-41,8) | 130,14±4,21** (115,7-141,5) | 76,38±1,136** (72,7-79,1) | 62,74±0,746** (60,7-65,2) |
| Холестерин, мг/дл | 51,04±0,97 (48,1-53,7) | 58,04±1,31* (53,9-61,6) | 54,12±0,432*** (52,1-55,7) | 53,28±0,34* (52,1-4,1) |
| ЛПВП | 14,5±0,49 (13,3-15,9) | 9,04±0,21** (8,4-9,5) | 10,76±0,163** (10,2-11,2) | 14,04±0,37** (13,1-14,8) |
| ЛПНП | 28,18±0,73 (26,4-30,7) | 36,4±0,73** (34,7-36,8) | 33,48±0,289** (32,8-34,2) | 28,04±0,48** (27,7-30,0) |
| ЛПОНП | 7,9±0,50 (6,8-9,5) | 12,58±0,64** (10,6-14,3) | 9,9±0,842*** (7,1-11,6) | 10,34±0,31*** (9,6-11,2) |
| СЖК | 8,12±1,25 (5,9-12,9) | 16,6±0,83 (13,-18,0)** | 13,7±0,33* (12,8-14,5) | 9,52±0,208**** (9,0-10,2) |

Примечания: ** – *p* интакт <0,001; * – *p* интакт <0,01; ** – *p* <0,001; * – *p* <0,01; *** – *p* <0,05; **** – *p* >0,05.

животных, получавших препарат. Таким образом, экстракт листьев шелковицы белой в плацебо контролируемом эксперименте значительно улучшает картину липидного состава крови, особый интерес представляет увеличение содержания антиатерогенных ЛНВП. Данные представлены в табл. 1. Возможно, что снижение уровня триглицеридов обусловлено улучшением компенсации углеводного обмена, что сопровождается подавлением липолиза и снижением печеночной продукции ЛПНП. Снижение гипергликемии и количества циркулирующих СЖК предположительно объясняют антидиабетический эффект препарата: так как именно инсулин наряду со снижением содержания сахара в крови оказывает антилипидогенный эффект [6], то можно предположить, что под действием экстракта шелковицы белой ускоряется регенерация β -клеток и препарат обладает инсулин-сенситизирующим действием в отношении резидуального инсулина.

Для определения эффективности действия исследуемого препарата на выраженность ПОЛ на фоне аллоксанового диабета обследовались гомогенаты тканей, наиболее страдающие от СРО при СД. Результаты представлены в табл. 2. Так, результаты исследований действия препарата и плацебо были таковы. Выраженность изменения первичных продуктов ПОЛ (ДК) под действием препарата на фоне аллоксанового диабета относительно аллоксаниндуцированных животных, проявилось следующим образом: в крови снизилась на 64,9%, печени – на 66,4%, сердце – на 67,8%, почках – на 81,0%, поджелудочной железе – на 80,9%, тогда как

в группе животных, получавших плацебо, эти показатели соответственно были 48,9%, 46,7%, 54,9%, 49,4%, 55,6%. Выраженность изменения вторичных продуктов ПОЛ (МДА) под действием препарата на фоне аллоксанового диабета относительно аллоксаниндуцированных животных проявилась следующим образом: в крови снизилась на 73,4%, печени – на 66,9%, сердце – на 78,6%, почках – на 80,3%, поджелудочной железе – на 82,0%, тогда как в группе животных, получавших плацебо, эти показатели соответственно были 48,1%, 37,6%, 45,0%, 37,5%, 43,7%. Как видно из полученных результатов, исследуемый препарат относительно контрольной группы, получавшей плацебо, более эффективно снижает выраженность ПОЛ, что объясняется флавоноидной природой биологически активных веществ экстракта шелковицы белой. Повышение активности ПОЛ приводит к увеличению «жесткости» мембран фосфолипидного бислоя мембран клеток, что способствует снижению активности Na^+ , K^+ АТФ-азы и нарушению инсулинсвязывающей активности рецепторов, в результате угнетается потребление глюкозы тканями вследствие изменения количества инсулиновых рецепторов и их сродства к гормону [6]. Анализ полученных результатов и сведений литературы позволяет предположить, что одной из причин гипогликемического действия препарата является улучшение состояния мембран клеток, вследствие чего снижается резистентность периферических тканей к действию инсулина. Снижение ПОЛ уменьшает риск появления модифицированных ЛПНП, являющихся основным фактором развития ангиопатий при СД.

ТАБЛИЦА 2

Показатели влияния экстракта листьев шелковицы белой на выраженность ПОЛ (нмол/мл и нмол/мг ткани) на фоне аллоксанового диабета

| Объект | | Интактные, n=5 | Аллоксановый диабет (модель), n=5 | Аллоксановый диабет + плацебо (контроль), n=5 | Аллоксановый диабет+ экстракт, n=5 |
|----------------------|-----|-------------------------|-----------------------------------|---|------------------------------------|
| Кровь | ДК | 5,04±0,108 (4,7-5,3) | 18,62±0,647 (16,7-20,1) | 9,52±0,171 (9,2-10,1) | 5,54±0,163 (6,1-7,0) |
| | МДА | 3,16±0,16 (2,8-3,7) | 15,46±0,474 (14,7-17,3) | 8,02±0,206 (7,3-8,5) | 4,12±0,1 (3,9-4,5) |
| Печень | ДК | 3,38±0,12 (3,0-3,7) | 20,14±0,738 (19,8-22,2) | 10,74±0,254 (10,0-11,3) | 6,76±0,098 (6,5-7,1) |
| | МДА | 2,84±0,13 (2,5-3,3) | 17,12±0,512 (15,7-18,3) | 10,68±0,128 (10,3-11,0) | 5,66±0,144 (5,2-6,0) |
| Сердце | ДК | 2,7±0,063 (2,5-2,9) | 11,94±0,359 (10,9-12,9) | 5,38±0,116 (5,0-5,7) | 3,84±0,108 (3,5-4,1) |
| | МДА | 1,94±0,11 (1,6-2,2) | 9,42±0,35 (8,7-10,7) | 5,18±0,107 (4,9-5,5) | 2,02±0,066 (1,8-2,2) |
| Почки | ДК | 3,46±0,163 (3,0-3,9) | 22,02±0,326 (20,9-22,7) | 11,14±0,112 (10,9-11,5) | 4,18±0,107 (3,9-4,5) |
| | МДА | 1,86±0,1 (1,6-2,0) | 16,94±0,431 (15,3-17,7) | 10,58±0,263 (9,8-11,3) | 3,34±0,163 (2,9-3,7) |
| Поджелудочная железа | ДК | 2,32±0,12 (2,1-2,7) | 25,12±0,269 (24,3-25,7) | 11,16±0,172 (10,7-11,7) | 4,8±0,084 (4,6-5,0) |
| | МДА | 1,8±0,07 (1,6-2,0) | 19,66±0,781 (17,3-21,7) | 11,06±0,136 (10,7-11,5) | 3,54±0,081 (3,3-3,7) |

Примечание: результаты достоверны при $p < 0,001$.

Гиперхолестеринемия, гипергликемия являются факторами, способствующими развитию ангиопатий при диабете [1]. В наших экспериментах у аллоксаниндуцированных животных активизация ПОЛ в почках сопровождается увеличением концентрации общего белка, креатинина и мочевой кислоты. Под действием экстракта листьев шелковицы белой снижение концентрации ДК и МДА в гомогенатах тканей почек приводит к снижению указанных биохимических параметров соответственно на 27,7%, 24,4%, 34,5%, тогда как в группе пациентов, получавших плацебо, эти показатели соответственно изменились на 13%, 10,5%, 25,1%. Изменения указанных параметров коррелируют с изменениями ПОЛ и, следовательно, основной причиной улучшения почечных показателей, наряду со снижением сахара и холестерина, предположительно является антиоксидантное действие препарата.

мических параметров соответственно на 27,7%, 24,4%, 34,5%, тогда как в группе пациентов, получавших плацебо, эти показатели соответственно изменились на 13%, 10,5%, 25,1%. Изменения указанных параметров коррелируют с изменениями ПОЛ и, следовательно, основной причиной улучшения почечных показателей, наряду со снижением сахара и холестерина, предположительно является антиоксидантное действие препарата.

ТАБЛИЦА 3

Влияние экстракта листьев шелковицы белой на печеночные и почечные показатели на фоне аллоксанового диабета

| Показатели | Интактный контроль, n=5 | Аллоксановый диабет (модель), n=5 | Аллоксановый диабет + плацебо (контроль), n=5 | Фармакологическое воздействие, n=5 |
|------------------------|------------------------------|-----------------------------------|---|------------------------------------|
| Общий билирубин, мг/дл | 0,43±0,012 (0,40-0,47) | 0,642±0,035* (0,52-0,72) | 0,496±0,017** (0,78-0,85) | 0,43±0,062• (0,20-0,40) |
| АЛТ, ЕД/л | 63,18±4,12 (50,0-72,0) | 89,68±3,13* (83,5-99,8) | 72,52±1,978** (68,7-78,7) | 66,28±5,27** (48,2-78,0) |
| АСТ, ЕД/л | 244,7±13,18 (222,3-287,9) | 323,34±8,09* (318,2-329,1) | 277,96±8,015** (255,9-301,2) | 248,18±8,05*** (220,0-224,0) |
| ГТП, ЕД/л | 28,78±0,64 (26,5-30,0) | 51,08±3,41* (40,3-59,5) | 41,18±0,811• (38,5-42,5) | 37,9±0,57** (36,5-39,7) |
| Креатинин, мг/дл | 0,64±0,024 (0,6-0,7) | 0,94±0,024* (0,9-1,0) | 0,818±0,0146*** (0,78-0,85) | 0,68±0,037*** (0,6-0,8) |
| Общий белок, мг/дл | 76,62±0,7 (75,0-79,0) | 88,34±0,798* (15,3-11,28) | 79,08±1,28*** (75,2-82,9) | 66,76±2,88*** (58,9-75,0) |
| Мочевая кислота, мг/дл | 1,2±0,184 (0,7-1,7) | 5,1±0,114* (4,9-5,5) | 3,82±0,116*** (3,5-4,1) | 3,34±0,297*** (2,7-4,4) |

Примечания: * – p интакт $< 0,001$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; • – $p < 0,05$.

Сдвиг метаболічних і ензимологічних ознак пошкодження печини в сторону удешевлення під дією препарату демонструє зниження показателів концентрації загального білірубину, аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, глутамінтрансферази відповідно на 33,0%, 26,1%, 23,2%, 25,8%, тоді як в групі, одержавшій плацебо, ці показателі відповідно були 22,7%, 19,1%, 14,0%, 19,4%.

ВЫВОДЫ

1. Екстракт листів шелковиці білої сприяє зниженню підвищеного вмісту цукру в крові аллоксаниндуцирваних тварин.

2. При введенні всередину препарат викликає антиоксидантний ефект, що виражається мембраностабілізуючим ефектом і зниженням активності перекисного окислення ліпідів.

3. Екстракт листів шелковиці білої позитивно впливає на метаболізм гепатоцитів, усуває функціональну недостатність ензимсинтезуючих звеньїв, підвищує антиоксидантні властивості печини і тим самим викликає патогенетичне антидіабетичне діє.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Современные возможности профилактики сахарного диабета 2 типа // Русский медицинский журнал. — 2007. — Т.15. — №11. — С. 916-920.
2. Бондарь И.А., Климонтов В.В., Надев А.П., Бганова Н.П. Начальные изменения у больных сахарным диабетом 1-го типа // Проблемы эндокринологии. — 2007. — Т.53. — №5. — С. 3-8.
3. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях. — М.: Медицина, 1969. — 28 с.
4. Деримедведь Л.В., Бухтиярова И.П. Антиоксиданты в терапии сахарного диабета // Провизор. — 2007. — №24. — С. 14-18.
5. Джафарова Р.Э. Исследование препаратов некоторых видов растений на выявление гипогликемического действия // Biomedisina. — 2007. — №4. — С. 27-32.
6. Князев Ю.А., Гурина А.Е., Максина А.Г., Дзугкоева Ф.С. Состояние цитоплазматических мембран при экспериментальном сахарном диабете // Сахарный диабет. — 2000. — №2. — Р. 22-28.
7. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных жирных кислот // Современные методы в биохимии. — Москва: Медицина, 1997. — С. 63-64.
8. Статистические методы исследования в медицине и здравоохранении / Под ред. проф. Л.Е.Полякова. — Ленинград: Медицина, 1971. — 199 с.
9. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. — 2001. — Vol. 414. — Р. 813-820.

Р.Е.Джафарова. Дослідження впливу екстракту *Morus alba* на перебіг експериментального цукрового діабету. Баку, Азербайджан.

Ключові слова: цукровий діабет, лікарські рослини, флавоноїди.

Зважаючи на складність етіопатогенезу цукрового діабету, необхідна розробка нових, більш ефективних патогенетично обґрунтованих підходів до терапії даної патології. Особливий інтерес представляють лікарські рослини, що містять комплекс біологічно активних речовин, надають не тільки цукрознижувальної дії, але і благоприємно впливають на загальний стан хворих. У даній роботі наведені результати дії екстракту листя шовковиці білої на стан вуглеводного та ліпідного обміну, на процеси перекисного окислення ліпідів, біохімічні показники функціонального стану печінки і нирок на фоні експериментального аллоксанового діабету. Отримані результати плацебоконтрольованих досліджень дають підставу стверджувати, що досліджуваний препарат статистично достовірно в крові аллоксаниндукованих щурів компенсує метаболічні розлади, надаючи гіпоглікемічну та гіполіпідемічну дію і знижує рівень оксидативного стресу.

R.A.Dzhafarova. Research the action extract of *Morus alba* on the pathological process of diabetes mellitus modeling. Baku, Azerbaijan.

Key words: diabetes mellitus, medicinal plants, flavonoids.

In this investigation have shown resulting of action of *Morus alba* on the carbon and lipid metabolism, lipid peroxidation, biochemical results of functional condition of liver and kidneys. Placebo controlling research has shown that studies preparation acts on metabolic disturbances and have hypoglycemic, hypolipidemic, and antioxidant effects. Decrease of blood sugar is equal to the amount of concentration of free fatty acids, and probably that extract of *Morus alba* increased regeneration of β -cells, and have insulin sensibility action for residual insulin. Decrease of amount of common cholesterol, triglycerides, lipoprotein with low density, and increase amount of lipoproteins with high density shows that this drug has antiatherogenic action. Reduction of primary and secondary products of lipid peroxidation is basic factor of antidiabetic action of our drug, so decreased tolerance of insulin receptors to insulin action. This preparation changed concentration of creatinin, urine acid and common protein in the blood. The drug changed metabolic and enzymological properties of liver disturbances and decreased amount of common bilirubin, alanintransferase, aspartataminotransferase, and glutamintransferase.

Надійшла до редакції 18.09.2012 р.