

В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський

Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового за умов високожирової дієти в щурів

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: чорноголовник родовиковий, інсулінорезистентність, високожирова дієта, абдомінально-вісцеральне ожиріння

Досить швидко збільшення людей з надлишковою масою тіла та ожирінням у багатьох країнах світу природним чином пов'язане зі зростанням частоти цукрового діабету (ЦД), насамперед, 2 типу (ЦД2). Близько 80–85 % хворих на ЦД2 схильні до підвищеної коруплентності, що вже близько двох десятиріч тому призвело до введення в обіг терміну «diabesity» (від англ. «diabet» – діабет і «obesity» – ожиріння) [1].

Також спостерігається стрімке зростання частки населення з метаболічним синдромом, який відповідно до резолюції Міжнародної Федерації Діабету, у першу чергу, характеризується присутністю у хворих інсулінорезистентності та абдомінально-вісцерального ожиріння [2].

Основними компонентами харчового жиру є гетерогенна суміш різних жирних кислот: мононенасичених, поліненасичених, насичених та трансненасичених жирних кислот. Насичені жирні кислоти мають здатність підвищувати інсулінорезистентність та ризик формування діабету. Епідеміологічні дослідження показують прямий взаємозв'язок харчових насичених жирних кислот з частотою резистентності до інсуліну або ЦД2. До того ж насичені жирні кислоти за умов гіперглікемії можуть пошкоджувати β -клітини, що відомо як концепція глюколіпотоксичності [3].

Надмірне споживання жирів (> 37 % від добової калорійності їжі) знижує чутливість до інсуліну, незалежно від складу жирних кислот в раціоні. Окрім збільшення ваги це може призводити до порушення транспорту глюкози,

зниження зв'язування інсуліну з його рецепторами та накопичення запасних тригліцеридів у скелетних м'язах.

Високожирова дієта (ВЖД) у три рази збільшує відносну масу вісцерального жиру, що може бути підґрунтям розвитку інсулінорезистентності [4].

Інтенсивний ліполіз у вісцеральних адипоцитах призводить до підвищення рівня вільних жирних кислот (ВЖК) у крові [5], а хронічно високий рівень ВЖК чинить ліпотоксичний ефект на β -клітини підшлункової залози. Встановлено, що «глюколіпотоксичність» надлишку ВЖК викликає стрес ендоплазматичного ретикулуму, який призводить до інсулінорезистентності та знову ж таки до загибелі β -клітин. У цілому, багаторазово і вірогідно показано, що «глюколіпотоксичність» надлишку ВЖК у більшості пацієнтів, які страждають на ожиріння, призводить до ланцюга патологічних порушень гомеостазу глюкози та до інсулінорезистентності багатьох тканин (м'язових, печінки, ендотеліальних клітин).

ВЖК – це незалежний предиктор порушення толерантності до глюкози та ЦД2. Таким чином, механізм розвитку інсулінорезистентності при надлишковій концентрації ВЖК відбувається за рахунок того, що:

- підвищується рівень глюкози, хронічно високий рівень ВЖК чинить «ліпотоксичний токсичний» ефект на β -клітини підшлункової залози;
- гіперглікемія збільшується через підвищений потік ВЖК у печінці, особливо за рахунок ліполізу вісцерального жиру та підвищення в печінці ендогенного синтезу глюкози;
- підвищений рівень церамідів, діацилтригліцерилу та триацилгліцерину інгібує шлях передачі інсулінового сигналу в скелетних м'язах.

До того ж підвищений рівень ВЖК викликає в мітохондріях макросудинних ендотеліальних клітин надлишкове утворення активних форм кисню, що призводить до оксидативного стресу, окиснення холестерину ліпопротеїнів низької щільності та модифікації холестерин-ліпопротеїнів високої щільності, що індукує запальний процес у стінках судин, ендотеліальну дисфункцію, призводить до утворення та накопичення холестеринових бляшок, а потім – до ішемії [6].

Зростання захворюваності на діабет, особливо в країнах, що розвиваються, породжує нові проблеми. Частка населення, яка не має доступу до сучасних ліків, так само, як і населення розвинених країн, прагнуть уникнути використання медикаментів та шукатиме способи лікування, які засновані на натуральних, природних компонентах. Лікування рослинними засобами для багатьох людей може бути більш прийнятним та простішим порівняно з таблетками або ін'єкціями.

Попередніми дослідженнями достовірно підтверджена гіпоглікемічна активність чорноголовника родовикового на експериментальній моделі дексаметазонавого діабету [7]. Тому наступним етапом вивчення цієї перспективної рослини стало дослідження його антидіабетичних властивостей за умов високожирової дієти.

Мета дослідження – вивчити антидіабетичні властивості відвару підземних органів чорноголовника родовикового в щурів за умов високожирової дієти.

Матеріали та методи. Для проведення дослідження були використані 6-місячні самці білих щурів лінії Wistar масою 200–220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію з доступом до води *ad libitum*. Дослідження проводили згідно з морально-етичними нормами відповідно до правил ICH/GCP, Хельсінкської декларації (1964 р.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицини і законодавства України.

Моделювання інсулінорезистентності здійснювали утриманням тварин на дієті з підвищеним вмістом жирів [4].

Тварини були розподілені на 4 групи по 6 піддослідних у кожній. Окрім групи тварин, що отримувала відвар підземних органів чорноголовника родовикового, була відокремлена група діабетичних тварин, які отримували за аналогічною схемою плацебо (діабетичний контроль), група інтактних тварин (інтактний контроль) та група діабетичних тварин, яким вводили референс-препарат.

Відвар чорноголовника родовикового (ВЧР) готували згідно зі стандартною фармакопейною методикою та застосовували перорально в дозі 10 мл/кг, оскільки ця доза виявилась оптимальною за оцінкою гіпоглікемічної активності ВЧР після одноразового введення [8]. Група діабетичного контролю одержувала еквівалентну кількість води дистильованої як плацебо.

Як референс-препарат використали похідне бігуанідів – метформін у дозі 150 мг/кг [9–11]. Метформін як препарат вибору для лікування ЦД2 має здатність покращувати показники глікемії та ліпідного обміну у хворих з абдомінальним ожирінням та порушенням толерантності до глюкози [12].

Характеристику глюкозного гомеостазу проводили за допомогою короткого інсулінового тесту та орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ). Забір крові проводили шляхом дистальної резекції хвоста. Уміст глюкози в крові визначали за допомогою глюкометра One Touch Select. Абдомінально-вісцеральний жир збирали після декапітації тварин на фоні внутрішньоочеревинного введення розчину тіопентал-натрію (40 мг/кг).

Інсулінорезистентність моделювали утриманням тварин на дієті з підвищеним вмістом жирів.

Дослідження показують, що утримання щурів протягом короткого періоду (3–4 тижні) на ізокалорійній дієті, що відрізняється тільки жирно-кислотним профілем, достатньо, щоб спровокувати інсулінорезистентність. Але дієта з підвищеним рівнем не всіх жирних кислот викликає порушення в дії інсуліну. Так, лише дієта з високим вмістом насичених та мононенасичених жирів призводить до розвитку інсулінорезистентності в численних тканинах [13, 14].

Для моделювання інсулінорезистентності протягом 8 тижнів тварин утримували на високожировій дієті, у якій співвідношення білків, жирів та вуглеводів складало 6,5 : 52,5 : 41,0 % від загальної калорійності [15]. Тварин інтактного контролю утримували на стандартному раціоні, у якому співвідношення білків, жирів та вуглеводів складало 15,7 : 2,8 : 81,5 % від загальної калорійності їжі.

Протягом останніх 28 днів перебування на дієті тварини щодня отримували перорально ВЧР або референс-препарат.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням пакета програми «ANOVA». Статистичну значимість відмінностей вибірок встановлювали за допомогою критерію Манна-Уїтні. Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез вважали рівним 0,05 та 0,01.

Результати та їх обговорення. Протягом усього експерименту достовірно значимого набору ваги в тварин не спостерігали. Але було встановлено достовірне збільшення кількості абдомінально-вісцерального жиру в групі діабетичного контролю порівняно з інтактним контролем (рис. 1). Абдомінально-вісцеральний жир склав 8,5 % від загальної маси тварин діабетичного контролю. У групі інтактного контролю відношення абдомінально-вісцерального жиру до загальної маси становило 1,7 %, що достовірно свідчить про розвиток абдомінально-вісцерального ожиріння в тварин на тлі утримання їх на дієті з високим вмістом жирів.

Кількість абдомінально-вісцерального жиру в групі, що отримувала ВЧР, складала 1,2 %, що підтверджує його здатність стримувати формування абдомінально-вісцерального ожиріння за умов високожирової дієти.

Підтвердженням розвитку інсулінорезистентності за умов високожирової дієти було менше зниження рівня глюкози під час проведення короткого інсулінового тесту в щурів групи діабетичного контролю. Так, рівень глюкози у тварин інтактного контролю через 30 хв після введення інсуліну знижувався на 66,7 %, а у тварин діабетичного контролю – на 42 %.

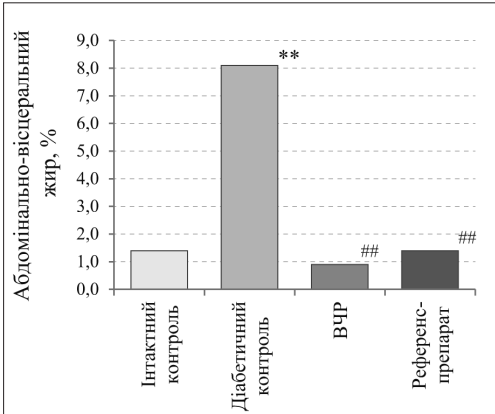


Рис. 1. Накопичення абдомінально-вісцерального жиру в щурів за умов високожирової дієти та впливу ВЧР, % до загальної маси тварин, $n = 6$

Примітка. Тут і на рис. 2–3: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – статистично значущі відмінності порівняно з показниками інтактного контролю; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ – статистично значущі відмінності порівняно з показниками діабетичного контролю.

Пероральне застосування ВЧР, подібно до референс-препарату, ефективно стримувало розвиток інсулінорезистентності за умов високожирової дієти, про що свідчать результати короткого інсулінового тесту (рис. 2). У групі тварин, які отримували ВЧР, рівень глюкози знижувався під впливом інсуліну на 57,7 %, а в групі тварин, що отримували референс-препарат (метформін) – на 57,9 %. Отримані дані достовірно відрізняються від показника діабетичного контролю та свідчать про здатність покращувати чутливість до інсуліну на тлі високожирового екзогенного навантаження.

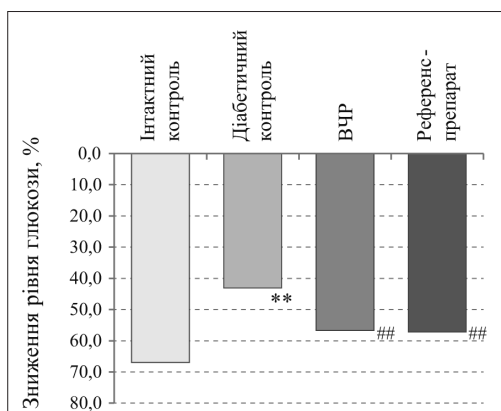
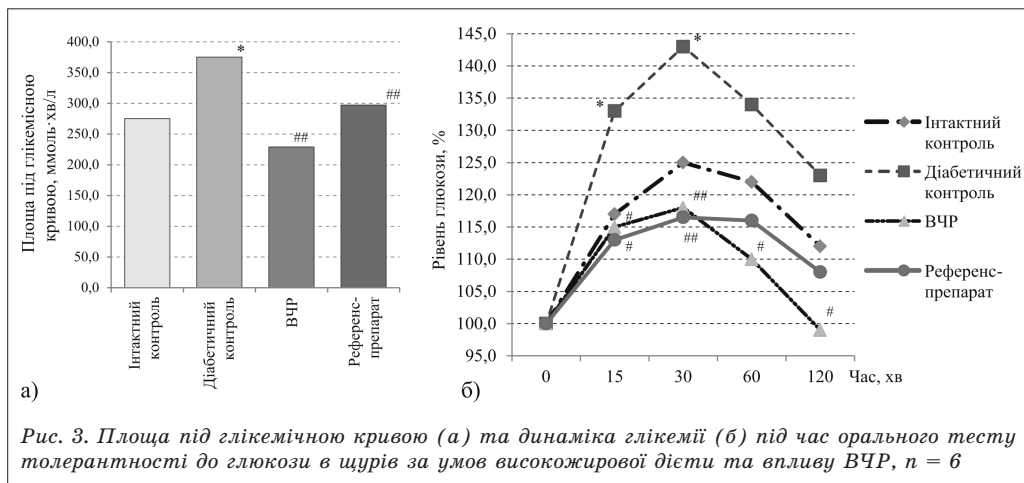


Рис. 2. Інсулінова гіпоглікемія в щурів за умов високожирової дієти та впливу ВЧР, $n = 6$



Утримання тварин на дієті з підвищеним вмістом жирів призводило до формування інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози, що підтверджено в ОТТГ (рис. 3).

Від початку проведення ОТТГ у групі діабетичного контролю на відміну від групи інтактного контролю відбулося різке зростання концентрації глюкози крові, що підтверджує наявність зниженої чутливості β -клітин підшлункової залози до глюкози.

Оцінку глікемічної реакції при проведенні тесту толерантності до вуглеводів здійснювали порівнянням площі під кривими. Було встановлено, що площа під глікемічною кривою в групі діабетичного контролю була значно більшою за аналогічну площу групи інтактного контролю, що підтверджує формування інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози в групі діабетичного контролю.

Пероральне введення тваринам ВЧР та референс-препарату стримувало розвиток досліджуваних порушень у вуглеводному обміні. Розраховані площі під глікемічною кривою в результаті ОТТГ у групах, які отримували ВЧР та метформін, достовірно відрізнялися від такої в групі діабетичного контролю та набли-

жилися до значення групи інтактного контролю.

Таким чином, експериментальне дослідження гіпоглікемічних властивостей ВЧР за умов інсулінорезистентності, індукованої дієтою з підвищеним вмістом жирів, показало наявність гальмівної дії ВЧР на порушення обміну вуглеводів.

Пероральне застосування ВЧР протягом 28 днів гальмувало розвиток інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози в тварин, яких утримували на високожировій дієті, що підтверджено суттєвим зменшенням площі під глікемічними кривими під час ОТТГ та вираженою інсуліновою гіпоглікемією порівняно з показниками групи діабетичного контролю.

Висновок

Результати експериментів на щурах з моделлю інсулінорезистентності, індукованої утриманням тварин на високожировій дієті, свідчать про здатність відвару підземних органів чорноголовника родовикового знижувати формування абдомінально-вісцерального ожиріння та обмежувати порушення обміну вуглеводів.

1. Полозова Л. Г. Терапія сахарного діабета 2-го типу: ефективність, доказана часом // Л. Г. Полозова // Международный эндокринологический журнал. – 2013. – № 4 (52). – С. 57–62.
2. Кочергина И. И. Пути коррекции инсулинорезистентности и метаболического синдрома при СД 2 типа. Роль Сиофора / И. И. Кочергина, К. А. Уланова // Русский медицинский журнал. – 2007. – Т. 15, № 28. – С. 2160–2168.
3. Weickert Martin O. Nutritional Modulation of Insulin Resistance / Martin O. Weickert // Scientifica. – 2012. – V. 1. – P. 1–15.
4. Бориков О. Ю. Протективний ефект кверцетину щодо розвитку метаболічного синдрому, індукованого високожировою дієтою у оварієктомованих щурів / О. Ю. Бориков // Проблеми ендокринної патології. – 2010. – № 4. – С. 85–93.

5. Карпов Ю. А. Метформин как средство патогенетической терапии больных с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2-го типа / Ю. А. Карпов, А. Т. Шубина // Русский медицинский журнал. – 2010. – № 22. – С. 131–135.
6. Вельков В. В. Вільні жирні кислоти – фактор ризику інсулінорезистентності та ішемії: перспективи для оцінки ризиків і діагностики / Вельков В. В. // Лабораторна діагностика. – 2009. – № 3 (49). – С. 55–70.
7. Клеванова В. С. Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового (*Poterium sanguisorba* L.) за умов дексаметазонавого діабету в щурів / В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський, Г. О. Жернова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 1 (42). – С. 48–52.
8. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. рекомендации / ред. А. В. Стефанова. – Киев. – ИД «Авиценна», 2002. – С. 84–90.
9. Safety, efficacy and toxicological evaluation of a novel, patented anti-diabetic extract of *Trigonella Foenum-Graecum* seed extract (Fenfuro) / A. Swaroop, M. Bagchi, P. Kumar, H. G. Preuss [et al.] // Toxicol Mech Methods. – 2014. – V. 24, № 7. – P. 495–503.
10. Effects of Chinese Fructus Mume formula and its separated prescription extract on insulin resistance in type 2 diabetic rats / J. B. Li, L. J. Xu, H. Dong [et al.] // J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci. – 2013. – V. 33, № 6. – P. 877–885.
11. Studies on the antidiabetic activities of *Cordyceps militaris* extract in diet-streptozotocin-induced diabetic Sprague-Dawley rats / Y. Dong, T. Jing, Q. Meng [et al.] // BioMed Research International. – 2014. – V. 1. – P. 1–11.
12. Берштейн Л. М. Диабет, ожирение и онкологическая заболеваемость: риски и антириски / Л. М. Берштейн // Сахарный диабет. – 2012. – № 4. – С. 81–88.
13. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. / L. H. Storlien, A. B. Jenkins, D. J. Chisholm [et al.] // Diabetes. – 1991. – V. 40, № 2. – P. 280–289.
14. Diet composition and insulin action in animal models / L. H. Storlien, J. Higgins, T. C. Thomas [et al.] // British Journal of Nutrition. – 2000. – V. 83, № 1. – P. 85–90.
15. Dietary Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*) Prevents Fat Deposition and Lowers Triglyceride in Rats Fed a High-Fat Diet / D. Handayani, J. Chen, B. J. Meyer, and X. F. Huang // Journal of Obesity. – 2011. – V. 1. – P. 1–8.

В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський

Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового за умов високожирової дієти в щурів

Мета дослідження – вивчити антидіабетичні властивості відвару підземних органів чорноголовника родовикового в щурів за умов високожирової дієти.

Моделювання інсулінорезистентності проводили за допомогою дієти з підвищеним вмістом жирів. Для моделювання інсулінорезистентності протягом 8 тижнів тварин утримували на високожировій дієті, у якій співвідношення білків, жирів та вуглеводів складало 6,5 : 52,5 : 41,0 % від загальної калорійності. Тварин інтактного контролю утримували на стандартному раціоні, в якому співвідношення білків, жирів та вуглеводів складало 15,7:2,8:81,5 % від загальної калорійності їжі. Протягом останніх 28 днів перебування на дієті щодня проводили пероральне введення ВЧР та референс-препарату.

Відвар чорноголовника родовикового (ВЧР) готували згідно зі стандартною фармакопейною методикою та вводили перорально в дозі 10 мл/кг. Як референс-препарат застосовували перорально метформін у дозі 150 мг/кг. Група діабетичного контролю одержувала еквівалентну кількість води дистильованої. Характеристику глікозного гомеостазу проводили за допомогою короткого інсулінового тесту та орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ).

У результаті експерименту було встановлено достовірне збільшення кількості абдомінально-вісцерального жиру в групі діабетичного контролю (8,5 % від загальної маси) порівняно з інтактним контролем (1,7 % від загальної маси). Кількість абдомінально-вісцерального жиру в групі, що отримувала ВЧР, склала 1,2 %. Рівень глюкози у тварин інтактного контролю через 30 хв після введення інсуліну знижувався на 66,7 %, а у тварин діабетичного контролю – на 42 %. У групі, яка отримувала ВЧР, рівень глюкози під впливом інсуліну зменшувався на 57,7 %, а в групі, що отримувала референс-препарат – на 57,9 %. Розраховані площі під глікемічною кривою в результаті ОТТГ у групах, які отримували ВЧР та метформін, достовірно відрізнялися від такої площі в групі діабетичного контролю та наближались до значення групи інтактного контролю.

Отримані результати свідчать про те, що пероральне застосування ВЧР гальмує розвиток інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози, а також знижує формування абдомінально-вісцерального ожиріння в щурів, яких утримували на високожировій дієті.

Ключові слова: чорноголовник родовиковий, інсулінорезистентність, високожирова дієта, абдомінально-вісцеральне ожиріння

В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський

Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового за умов високожирової дієти в щурів

Цель исследования – изучить противодиабетические свойства отвара подземных органов чорноголовника родовикового у крыс в условиях высокожирової дієти.

Моделирование инсулинорезистентности проводили с помощью диеты с повышенным содержанием жиров. Для моделирования инсулинорезистентности в течение 8 недель животных содержали на высокожировой диете, в которой соотношение белков, жиров и углеводов составило 6,5 : 52,5 : 41,0 % от общей калорийности. Животных интактного контроля содержали на стандартном рационе, в котором соотношение белков, жиров и углеводов составляло 15,7 : 2,8 : 81,5 % от общей калорийности пищи. В течение последних 28 дней содержания на диете животным ежедневно перорально вводили ОЧК или референс-препарат.

Отвар черноголовника кровохлебкового (ОЧК) готовили согласно стандартной фармакопейной методики и вводили перорально в дозе 10 мл/кг. В качестве референс-препарата использовали производное бигуанидов – метформин в дозе 150 мг/кг. Группа диабетического контроля получала эквивалентное количество воды дистиллированной. Характеристику глюкозного гомеостаза проводили с помощью короткого инсулинового теста и орального теста толерантности к глюкозе (ОТТГ).

В результате эксперимента было установлено достоверное увеличение количества абдоминально-висцерального жира в группе диабетического контроля (8,5 % от общей массы) по сравнению с интактным контролем (1,7 % от общей массы). Количество абдоминально-висцерального жира в группе, получавшей ОЧК, составило 1,2 %.

Уровень глюкозы у животных интактного контроля через 30 мин после введения инсулина снижался на 66,7 %, а у животных диабетического контроля – на 42 %. В группе, которая получала ОЧК, уровень глюкозы под влиянием инсулина снижался на 57,7 %, а в группе, получавшей референс-препарат, – на 57,9 %.

Рассчитанные площади под гликемической кривой в результате ОТТГ в группах, получавших ВЧР и метформин, достоверно отличались от такой в группе диабетического контроля и приближались к значению группы интактного контроля.

Полученные результаты свидетельствуют, что пероральное применение ОЧК тормозит развитие инсулинорезистентности и интолерантности к глюкозе, а также снижает формирование абдоминально-висцерального ожирения у крыс, находящихся на высокожировой диете.

Ключевые слова: черноголовник кровохлебковый, инсулинорезистентность, высокожировая диета, абдоминально-висцеральное ожирение

V. S. Klevanova, S. D. Trzhetsynskyy

Antidiabetic properties of blood burnet in rats under high-fat diet

The aim of the study was to investigate antidiabetic properties of Blood burnet's underground organs decoction on rats under high-fat diet conditions.

Simulation of insulin resistance was performed using high-fat diet. For 8 weeks animals were fed on high-fat diet, in which the ratio of protein, fat and carbohydrate was 6,5 : 52,5 : 41,0 % of total calories. Intact animals were kept on standard diet in which the ratio of protein, fat and carbohydrates was 15,7 : 2,8 : 81,5 % of the total caloric intake. Oral administration of Blood burnet's decoction and the reference drug was conducted daily (after 56 days of the diet), for the last 28 days of high-fat diet.

Blood burnet's decoction (BBD) was prepared according to a standard pharmacopeia method and administered orally at the dose 10 ml/kg. Metformin (150 mg/kg) were used as a reference drug. Diabetic control group received an equivalent amount of distilled water as a placebo. Characteristic of glucose homeostasis was carried out using a short insulin test, oral glucose tolerance test (OGTT).

There was a significant increase in the amount of abdominal (visceral) fat in control group (8,5 % of total weight) as compared with intact group (1,7 % of total weight). At the same time, the amount of abdominal (visceral) fat in the BBD's group was 1,2 %.

Glucose level reduced on 66,7 % after 30 minutes of insulin administration in intact animals and on 42 % in control animals. In group which received BBD glucose level decreased on 57,7 % under the influence of insulin and in the group treated with the reference drug (metformin) on 57,9 %.

The calculated area under the glycemic curve in OGTT was significantly different in groups receiving BBD and metformin from such area in control group and approached to the area of intact group.

The results show that the Blood burnet's decoction has the ability to reduce formation of insulin resistance and glucose tolerance, and also reduces the formation of abdominal (visceral) obesity under the high-fat diet in rats.

Key words: blood burnet, insulin resistance, high-fat diet, abdominal (visceral) obesity

Надійшла: 21.05.2015 р.

Контактна особа: Клеванова В. С., старший лаборант, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: +38 0 95 830 95 67. Електронна пошта: kushugum@mail.ru