

УДК 615.322:577.126:616.08

А. Л. Загайко, О. І. Чумак, В. П. Филимоненко

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТІВ З ЛИСТЯ СТЕВІЇ ТА ЧОРНИЦІ НА ПОКАЗНИКИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ, ІНДУКОВАНОГО ВИСОКОФРУКТОЗНОЮ ДІЄТОЮ З ДОДАВАННЯМ ІН'ЕКЦІЙ ДЕКСАМЕТАЗОНУ

Досліджено вплив екстрактів з листя стевії і чорниці на розвиток інсулінорезистентності. Утримання лабораторних тварин на високофруктозній дієті викликає комплекс метаболічних порушень, характерних для СД 2-го типу. Виявлено виражену гіпоглікемічну і слабку антиоксидатну дію екстракту з листя стевії, в той час як застосування екстракту з листя чорниці при однакових експериментальних умовах проявляється в більш вираженій антиоксидатній дії. Рекомендовано спільне застосування досліджених екстрактів у комплексному лікуванні ЦД 2-го типу.

Ключові слова: екстракт з листя чорниці (*Vaccinium myrtillus*); екстракт з листя стевії (*Stevia rebaudiana* Bertoni); цукровий діабет 2-го типу; інсулінорезистентність, дексаметазон

ВСТУП

Цукровий діабет 2-го типу (ЦД 2) є метаболічним захворюванням, що характеризується хронічною гіперглікемією, яка розвивається в результаті порушення секреції інсуліну або механізмів його взаємодії з клітинами тканин. Відомо, що головною причиною у розвитку серцево-судинних ускладнень є гіперглікемія. Остання призводить до інтенсивного утворення вільних радикалів, які є тригерами процесів ліпопероксидації, що, у свою чергу, спричиняє розвиток атеросклерозу.

На фармацевтичному ринку України зареєстровано ряд синтетичних лікарських препаратів, що використовуються для корекції стану та лікування хворих на ЦД. Проте з'ясовано, що синтетичні препарати мають ряд побічних ефектів, серед яких є активація вільнорадикальних процесів окиснення. На сьогодні фітотерапія стає важливою складовою частиною лікування та профілактики метаболічних порушень. Вона може використовуватись за певних стадій ЦД як монотерапія у комбінації з дієтотерапією, а також при сумісному застосуванні з цукрознижувальними засобами та/або інсуліном. Досліджено, що рослинні глікозиди та флавоноїди можуть виявляти гіпоглікемічну та антиоксидатну дію.

Стевія (*Stevia rebaudiana* Bertoni) є багаторічною рослиною з родини Айстрові (*Asteraceae*). Відомо, що

листя даної рослини містить дитерпенові глікозиди, які майже у 40 разів солодші за сахарозу. Стевіол є основним структурним компонентом глікозиду стевії. В ряді країн стевію використовують як цукрозамінник [10]. Стевіозид, компонент листя стевії, володіє гіпоглікемічною, протизапальною та гіпертензивною дією, що виявляється у зниженні рівня глюкози, глікозильованого гемоглобіну крові у пацієнтів з цукровим діабетом [16, 11]. Стевія входить до складу типових зборів, збагачених мікроелементами, для хворих на ЦД 2-го типу [9, 14].

Чорниця звичайна (*Vaccinium myrtillus* L.) є багаторічною рослиною з родини Вересових (*Ericaceae*). У листі чорниці звичайної переважають флавоноїди, протоантоціанідини, тритерпени, а також фенольні сполуки, зокрема, полімірилін, який використовують у водних настоях для лікування початкових стадій ЦД [1, 2]. Експериментально доведено, що препарати з листя чорниці звичайної також використовують у складі рослинних зборів для зниження рівня цукру крові при ЦД [6].

Метою даної роботи було дослідження впливу сухих екстрактів з листя стевії та чорниці на розвиток метаболічних порушень у щурів при експериментальному цукровому діабеті, спричиненому дексаметазоном на фоні високофруктозної дієти.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експеримент проводили на самцях щурів лінії Wistar вагою 160-200 г, яких утримували в умовах

Таблиця 1

ВМІСТ ГЛІКОЗИЛЬОВАНОГО ГЕМОГЛОБІНУ, ФРУКТОЗАМІНУ, РІВЕНЬ БАЗАЛЬНОЇ ГЛІКЕМІЇ, ПГК, ІРІ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ПРИ ВВЕДЕННІ ДЕКСАМЕТАЗОНУ (ДЕКС) ТА ЕКСТРАКТІВ СТЕВІЇ АБО ЧОРНИЦІ ($M \pm m$, $n = 6$)

Показник	Інтакт	Дексаметазон	Декс + стевія	Декс + чорниця
Глікозильований гемоглобін, %	7,5 ± 0,5	9,6 ± 0,7*	8,6 ± 0,7**	8,4 ± 0,6**
Фруктозамін, ммоль/л	1,91 ± 0,12	3,6 ± 0,29*	3,1 ± 0,26*	2,45 ± 0,24**
Базальна глікемія, ммоль/л	4,04 ± 0,11	13,42 ± 0,38*	5,06 ± 0,27#	12,08 ± 0,24*
ПГК, ммоль/л/мин	625,44 ± 16,56	2092,25 ± 60,48*	700 ± 17,66#	1100 ± 61,56**
Глюкоза, ммоль/л	4,6 ± 0,1	11,2 ± 0,2*	7,3 ± 0,2**	8,2 ± 0,1**
ІРІ, пмоль/л	221,74 ± 20,79	317,97 ± 39,72*	280 ± 21,81	302 ± 36,70*

Примітка: * – різниця достовірна відносно інтактної групи тварин ($p \leq 0,05$); # – різниця достовірна відносно дексаметазону ($p \leq 0,05$).

природної зміни режиму освітлення, температури та вологості повітря за стандартами віварію НФаУ на високофруктозній дієті з введенням низьких доз дексаметазону, як описано у роботі [19]. Дослідні тварини були розділені на групи: 1) інтактні тварини, які утримувалися на стандартному раціоні віварію; 2) тварини, яким поряд з високофруктозною дієтою (2 г фруктози на 100 г ваги тіла на добу) підшкірно щодня вводили дексаметазон у дозі 2 мг/100 г маси тіла протягом 6-ти тижнів; 3) тварини, яким протягом 2-х тижнів на фоні введення дексаметазону внутрішньошлунково вводили сухий екстракт з листя стевії у дозі 9 мг/100 г маси тіла; 4) тварини, яким протягом 2-х тижнів на фоні введення дексаметазону внутрішньошлунково вводили сухий екстракт з листя чорниці у дозі 9 мг/100 г маси тіла.

Тварини були декапітовані під хлоразоло-уретановим наркозом. Об'єктом дослідження була сироватка крові та печінка тварин. При виконанні експериментів дотримувалися «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), гармонізованих з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [15].

В сироватці крові визначали концентрацію глікозильованого гемоглобіну (HbA1C) імунотурбідиметричним методом, рівень фруктозаміну – спектрофотометричним методом з використанням тетразолію нітросинього, площу під глікемічними кривими (ПГК) при проведенні ВЧТТГ розраховували за допомогою комп'ютерної програми Mathlab, вміст глюкози – з використанням стандартних наборів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна), рівень імунореактивного інсуліну (ІРІ) – з використанням стандартних наборів фірми «РІО-ІПС-ПГ». Показники ліпопероксидації визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) та ТБК-реактивних продуктів (ТБК-РАП) за реакцією з тіобарбітуровою кислотою спектрофотометричним методом [7], стан антиоксидантної системи оцінювали шляхом визначення концентрації відновленого глутатіону (GSH) – спектрофотометрично за реакцією з алоксаном, а також глутатіонредуктазою (ГР) [8]. Глюкозний гомеостаз у експериментальних і контрольних тварин оці-

нювали в різні терміни після відтворення моделі (7, 14 і 21 день) за показниками базальної глікемії і внутрішньоочеревинного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ, 3 г/кг маси тіла). Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми STATISTICA (StatSoft Inc., США, версія 6.0). Значимість міжгрупових відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Введення лабораторним тваринам низьких доз дексаметазону викликає комплекс порушень, які характерні для метаболічного синдрому та діабету 2-го типу. Так, як наведено в табл. 1, за вказаних умов у сироватці крові щурів спостерігається підвищення рівня глікозильованого гемоглобіну, концентрації фруктозаміну, вмісту глюкози, рівня базальної глікемії, збільшення площі під глікемічними кривими. Це, ймовірно, може пояснюватися зниженням утилізації глюкози периферичними тканинами внаслідок пригнічення дексаметазоном експресії транспортерів глюкози GLUT 1 GLUT4 [12].

Рівень HbA1C є інформативним показником ефективності контролю рівня глюкози у крові. Швидкість синтезу глікозильованого гемоглобіну залежить від величини гіперглікемії, а нормалізація його рівня спостерігається через 1-1,5 міс. після досягнення еуглікемії [4], тому вміст HbA1C є адекватним показником компенсації вуглеводного обміну у хворих на діабет протягом тривалого часу, а збільшення рівня даного показника може відображати розвиток ретинопатії, нефропатії та інших ускладнень ЦД [17, 18]. Крім того, окрім гемоглобіну неферментативному глікозильованню у плазмі крові підлягає також альбумін, внаслідок чого утворюється фруктозамін.

Підвищення концентрації фруктозаміну та рівня базальної глікемії (табл. 1) в сироватці крові експериментальних тварин може свідчити про порушення регуляції глікемії інсуліном [3].

При введенні сухих екстрактів стевії та чорниці на фоні їхнього сумісного введення з дексаметазоном спостерігається нормалізуючий вплив цих речовин на показники, що досліджуються (табл. 1, 2). Так, за

Таблиця 2

**ВМІСТ ТБК-АП, ДК, GSH І ГР В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ ДЕКСАМЕТАЗОНУ (ДЕКС)
ТА ЕКСТРАКТИВ СТЕВІЇ АБО ЧОРНИЦІ (M ± m, n = 6)**

Показник	Інтакт	Дексаметазон	Декс + стевія	Декс + чорниця
ТБК-АП, нмоль/г	0,96 ± 0,27	3,56 ± 0,41*	2,74 ± 0,32	0,98 ± 0,39#
ДК, нмоль/л	22,30 ± 1,42	28,5 ± 0,94*	27,1 ± 0,98	26,9 ± 0,96
GSH, ммоль/г	0,25 ± 0,01	0,12 ± 0,02*	0,21 ± 0,02	0,19 ± 0,03
ГР, нмоль/хв*мг білка	18,56 ± 0,64	14,20 ± 1,06*	15,2 ± 0,73*	17,9 ± 0,98

Примітка: * – різниця достовірна відносно інтактної групи тварин (p ≤ 0,05); # – різниця достовірна відносно дексаметазону (p ≤ 0,05).

вказаних умов значно знижується концентрація глікозильованого гемоглобіну, фруктозаміну, рівень глюкози, площа під глікемічними кривими, а також рівень імунореактивного інсуліну. Останнє може бути пов'язано з високим вмістом у листі чорниці ряду фенольних сполук, для яких характерна гіпоглікемічна та антиоксидатна дія. Механізм гіпоглікемічної дії поліфенолів пов'язаний з їх впливом на процес транспорту глюкози у клітину. Головна роль у гіпоглікемічній дії екстракту з листя чорниці належить міртиліну, що являє собою суміш ефірів дельвінідину і мальвінідину, які підвищують чутливість клітин до інсуліну [5], а екстракту з листя стевії – стевіозид, компонент листя стевії, введення якого знижує рівень глюкози, глікозильованого гемоглобіну крові у пацієнтів з цукровим діабетом [14, 11].

Отже, встановлені ефекти досліджених екстрактів, ймовірно, пояснюються високим вмістом глікозидів екстракту з листя стевії та поліфенолів з листя чорниці, а також їхньою сумісною дією.

Доведено, що гіперглікемія супроводжується активацією вільнорадикальних процесів, що обтяжує пошкодження органів і тканин. У табл. 2 показано, що при введенні щурам низьких доз дексаметазону в печінці тварин спостерігається зростання вмісту ТБК-АП та ДК (первинних продуктів ліпопероксидації), яке корелює зі зменшенням вмісту GSH та ГР, що вказує на збільшення вмісту показників ліпопероксидації та зменшення вмісту показників антиоксидатного статусу. Введення сухих екстрактів стевії та чорниці на фоні їхнього сумісного введення з дексаметазоном спричиняє нормалізацію показників ліпопероксидації та антиоксидатного статусу організму досліджуваних лабораторних тварин, що, вірогідно, обумовлене антиоксидантними властивостями екстрактів з листя чорниці та стевії, причому дані ефекти більш виразно виявляються при введенні екстрактів з листя чорниці.

ВИСНОВКИ

Використання сухих екстрактів з листя стевії та чорниці виявляє нормалізуючу дію на показники глікозилювання, рівень глюкози, показники ліпідного обміну в сироватці крові щурів при цукровому діабеті 2-го типу. Показана більш виражена антиоксидатна

дія екстракту з листя чорниці та гіпоглікемічна дія екстракту з листя стевії. Це свідчить про доцільність сумісного застосування екстрактів з листя стевії та чорниці з метою створення на їх основі лікарських засобів для корекції метаболічних порушень.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Барчук О. З. Визначення вмісту БАР в екстрактах з листя чорниці звичайної / О. З. Барчук, Л. В. Вронська // Фармакол. часопис. – 2012. – № 1. – С. 60-63.
2. Зворська О. Чорниця звичайна (*Vaccinium myrtillus* L.) – перспективна речовина для одержання лікарських засобів / О. Зворська, Т. Грошовий // Фармакол. часопис. – 2009. – № 3. – С. 29-33.
3. Ивашкин В. Т. Липотоксичность и метаболические нарушения при ожирении // Гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2010. – Т. 2, № 1. – С. 4-13.
4. 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.
5. Макарова М. Н. Антидиабетическая активность флавоноидов и их комбинаций с антиоксидантами / М. Н. Макарова, В. Г. Макаров // Фармація. – 2004. – № 2. – С. 30-32.
6. Рязанова Т. К. Фармакологическое исследование плодов и побегов черники обыкновенной // Фундаментальные исследования. – 2013. – Ч. 5, № 8. – С. 1136-1140.
7. Стальная И. Д. Метод определения ТБК-АП с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // В кн.: Современные методы в биологии; под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
8. Строев Е. А. Макарова В. Г. Практикум по биологической химии. – М.: Высш. шк., 1986. – 231 с.
9. Энциклопедия народной медицины / Укл. і відп. ред. О. Михайлевський. – Львів: Вид-во «Сполом», 2005. – Т. 1. – 1284 с.
10. Artoni S. Effects of stevia, aspartate, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels / [S. D. Artoni, C. K. Martin, H. Han et al.] // Appetite. – 2010. – Vol. 55, № 1. – P. 37-43.

11. Baby Joseph. In sight the hypoglycaemic effect of traditional indian herbs used the treatment of diabetes / Joseph Baby, D. Jini Rjamp // IJPT. – 2011. – Vol. 4. – P. 352-375.
12. Buren J. Dexamethasone decreases GLUT 1 and GLUT4 content in primary cultured rat adipocytes / J. Buren, J. Ereksjon // Diabetol. – 1999. – Vol. 42, № 1. – P. 170.
13. Chen T. H. Mechanism of the hypoglycemic effects of stevioside, a glycoside of stevia rebaudiana / [T. H. Chen, S. C. Chen, P. Chan et al.] // Planta Med. – 2005. – Vol. 71, № 2. – P. 108-113.
14. Edwin J. Diabetology and Herbal Medicine / J. Edwin, B. Siddaheswar, C. Dharam // IJPT. – 2008. – Vol. 7. – P. 97-108.
15. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes – Strasbourg: Council of Europe, 1986. – 53 p.
16. Gregersens S. Antihyperglycemic effects of stevioside in type 2 diabetic subjects / S. Gregersens, P. B. Jeppesen, J. J. Holst // Metabolism. – 2004. – Vol. 53, № 1. – P. 73-76.
17. Reddy K. J. The role of the insulin resistance in the pathogenesis of atherosclerotic cardiovascular diseases: an updated review // J. of Cardiovasc. Med. – 2010. – Vol. 11, № 9. – P. 633-647.
18. Salamar M. R. Relationships among insulin resistance, obesity, diagnosis of the metabolic syndrome and cardio-metabolic risk / M. R. Salamar // Diabetes and Cardiovasc. Dis. Res. – 2014. – Vol. 8, № 2. – P. 109-116.
19. Severino C. Low-dose dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance / [C. Severino, P. Brizzi, A. Solinas et al.] // Amer. J. of Physiol. – 2012. – Vol. 283, № 2. – P. 367-373.

УДК 615.322:577.126:616.08

А. Л. Загайко, Е. И. Чумак, В. П. Филимоненко

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ СТЕВИИ И ЧЕРНИКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА, ИНДУЦИРОВАННОГО ВЫСОКОФРУКТОЗНОЙ ДИЕТОЙ С ДОБАВЛЕНИЕМ ИНЪЕКЦИЙ ДЕКСАМЕТАЗОНА

Исследовано влияние экстрактов из листьев стевии и черники на развитие инсулинорезистентности. Содержание лабораторных животных на высокофруктозной диете вызывает комплекс метаболических нарушений, характерных для СД 2-го типа. Выявлено выраженное гипогликемическое и слабое антиоксидантное действие экстракта из листьев стевии, в то время как применение экстракта из листьев черники при одинаковых экспериментальных условиях проявляется в более выраженном антиоксидантном действии. Рекомендовано совместное применение исследованных экстрактов в комплексном лечении СД 2-го типа.

Ключевые слова: экстракт из листьев черники (*Vaccinium myrtillus*); экстракт из листьев стевии (*Stevia rebaudiana Bertoni*); сахарный диабет 2-го типа; инсулинорезистентность; дексаметазон

UDC 615.322:577.126:616.08

A. L. Zagayko, O. I. Chumak, V. P. Filimonenko

RESEARCH OF INFLUENCE OF EXTRACT OF LEAVES OF STEVIA AND BILBERRY ON THE PERFORMANCE OF DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL DIABETES INDUCED BY HIGH FRUCTOSE DIET BY MEANS OF ADDING OF INJECTIONS OF DEKSAMITHAZON

The study of the investigation of influence of extract from leaves of stevia and bilberry on the expression of insulin resistance. Keeping animals on high-calorie diet with the addition of fructose causes complex metabolic disorders specific to metabolic syndrome for type 2 diabetes. It was found that the antioxidation action and hypoglycemic effect of the extract from of stevia leaves, while the use of extract from bilberry under identical experimental condition, is manifested in more antioxidation action. Recommended joint use of the studied extracts in the complex treatment of diabetes 2-type.

Key words: stevia leaf extract (*Stevia rebaudiana Bertoni*); bilberry leaf extract (*Vaccinium myrtillus*); type 2 diabetes; insulin resistance; dexamethazone

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 25.04.2016 р.