

Метаболические эффекты экстракта крапивы при модели сахарного диабета

Якимова Т.В., Насанова О.Н., Мелешко М.В., Буркова В.Н.

Metabolic effects of nettle extract in diabetes mellitus

Yakimova T.V., Nasanova O.N., Meleshko M.V., Burkova V.N.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Якимова Т.В., Насанова О.Н., Мелешко М.В., Буркова В.Н.

При экспериментальном сахарном диабете, вызванном у крыс введением стрептозотоцина и диетой с высоким содержанием жира, экстракт крапивы снижал в крови уровень глюкозы, гликированного гемоглобина, триглицеридов, общего холестерина, суммарное содержание липопротеинов низкой и очень низкой плотности, степень гликирования липопротеинов высокой плотности независимо от пищевого режима в период терапии, уменьшал холестеровый индекс атерогенности, восстанавливал чувствительность к инсулину только на фоне диеты, обогащенной жиром. Метформин снижал в крови уровень глюкозы и гликированного гемоглобина у животных при обычном пищевом рационе во время терапии, нормализовал содержание липидов и индекс атерогенности при обоих вариантах диеты.

Ключевые слова: модель сахарного диабета типа 2, экстракт крапивы, метформин, гипергликемия, дислипидемия.

The blood level of glucose, glycosylated hemoglobin, triglycerides, total cholesterol, summary content of very low density and low density lipoproteins, high density lipoproteins glycosylation's degree had been decreased with the nettle (*Urtica dioica*) extract in experimental diabetes mellitus type II in rats that was being caused with streptozotocine intraperitoneal injection and high-fat diet. The effect did not depend on food regimen during the therapy. The cholesterol atherogenic index has been decreased and the sensitivity to insulin has been recovered with the nettle extract when high-fat diet only. The level of blood glucose and glycosylated hemoglobin has been decreased with metformin when usual food regimen during the therapy. The lipid content and cholesterol atherogenic index has been normalized with metformin when both variant of diet.

Key words: diabetes mellitus type II model, nettle extract, metformin, hyperglycemia, dyslipidemia.

УДК 615.322:582.635.5:615.451.16:615.27:616.379-008.64.08

Введение

Целью лечения сахарного диабета (СД) типа 2 является поддержание постоянного уровня гликемии, близкого физиологическому профилю секреции инсулина [1, 3]. Согласно международным исследованиям, компенсация СД является основой профилактики осложнений, увеличения продолжительности и улучшения качества жизни больных [9, 12]. Несмотря на разнообразие современных сахароснижающих средств, достижение стойкой компенсации представляет значительные трудности, гликемический контроль остается неоптимальным у большинства пациентов, сохраняется высокий риск сердечно-сосудистых осложнений. Кроме того, существенным недостатком многих современных сахароснижающих средств для приема внутрь и препаратов инсулина является прибавка массы тела [2, 10].

116

Современная фармакотерапия СД должна быть направлена на достижение и поддержание целевого уровня гликемии, коррекцию дислипидемии и инсулинорезистентности без выраженных нежелательных реакций [2].

Цель исследования — изучение влияния экстракта крапивы двудомной на метаболизм углеводов и липидов при модели СД, вызванного стрептозотоцином.

Материал и методы

Сухой экстракт получали из листьев крапивы двудомной (*Urtica dioica* L., сем. *Urticaceae*). Растение заготавливали в экологически чистом районе Томской области. Измельченное воздушно-сухое сырье настаивали на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин при температуре 80 °С. Соотношение сырья и воды очищенной составляло 1 : 15. Экстракцию проводили

трехкратно, после чего объединяли полученные порции и удаляли воду при температуре не выше 60 °С. Надземная часть крапивы содержала (78 ± 6) мг% каротиноидов в пересчете на β -каротин и ($0,0128 \pm 0,002$) мкмоль/г хлорофилла в пересчете на хлорофилл а.

Исследование проведено на 65 белых аутбредных крысах-самцах массой тела 220—250 г, полученных из клиники лабораторных животных НИИ фармакологии СО РАМН. Животных содержали в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей. Экспериментальный СД типа 2 вызывали двукратным внутривентральным введением стрептозотоцина в дозе 35 мг/кг массы тела с интервалом 2 дня. Для формирования устойчивости к инсулину животные в течение 8 нед после инъекций стрептозотоцина получали диету с повышенным содержанием жиров (белки — 8%, жиры — 30%, углеводы — 62% от общей суточной калорийности). Через 8 нед отбирали крыс с уровнем гликемии не менее 10 ммоль/л после голодания на протяжении 12—14 ч. Этим животным вводили экстракт крапивы (100 мг/кг массы тела) или препарат сравнения «Метформин» (450 мг/кг массы тела, «Берлин-Хеми АГ», Германия) ежедневно в желудок за 30 мин до еды в течение 10 сут, в последний раз за 20—22 ч до исследования. В этих дозах препараты в максимальной степени уменьшают гипергликемию при экспериментальном СД. Животных до начала терапии или введения растворителя препаратов — воды очищенной разделяли на две группы: первая продолжала получать диету с высоким содержанием жиров, вторая — обычный пищевой рацион (20% белков, 8% жиров и 72% углеводов).

Толерантность к инсулину оценивали по содержанию глюкозы в крови через 30, 60 и 120 мин после внутривентральной инъекции 0,5 МЕ/кг массы тела инсулина («Актрапид НМ», «Ново Нордикс А/С», Дания). Содержание глюкозы определяли энзиматическим методом с помощью системы контроля глюкозы в крови One Touch UltraEasy (LifeScan Inc., США). Уровень гликированного гемоглобина HbA_{1c} измеряли тест-системой Glycohemoglobin (High Technology Inc., США), гемоглобина — гемиглобинцианидным методом тест-системой «ЭКОлаб-Гемоглобин» («ЭКОлаб», Россия).

Для исследования обмена липидов кровь брали из сонной артерии под эфирным наркозом. В крови определяли концентрацию триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ХС), холестерина липопротеинов высокой

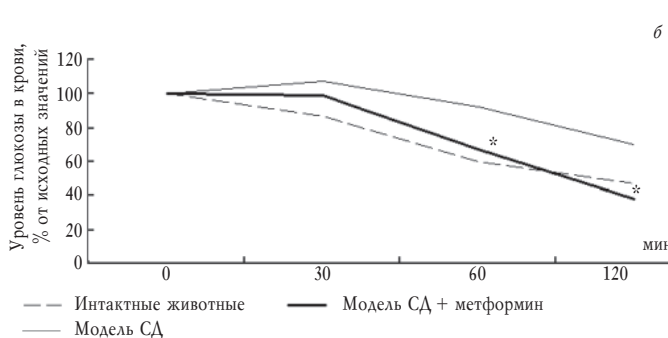
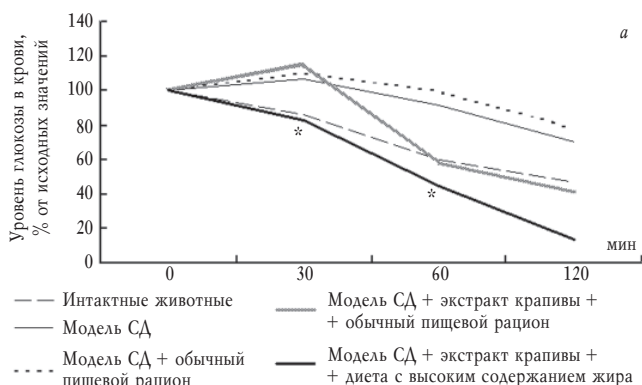
плотности (ХС-ЛПВП) тест-системами «Триглицериды», «Холестерин», «ЛПВП-холестерин» («Ольвекс диагностика», Россия), суммарное содержание липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) — турбиметрическим методом по Бурштейну и Самой [6]. Об устойчивости ЛПНП к окислению судили по концентрации малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови после активации Fe^{2+} [8]. Степень гликирования ЛПВП регистрировали по содержанию фруктозамина в расчете на 1 мг белка. Фруктозамин определяли тест-системой «Fructosamina» (Spinreact, S.A.U., Испания), белок — микробиуретовым методом [7]. Для расчета холестеролового индекса атерогенности липопротеинов исследовали количество свободного холестерина и его эфиров в ЛПВП [6]. В печени и скелетных мышцах определяли содержание гликогена методом Carrol N. и соавт. [13] в модификации авторов.

Результаты обрабатывали с помощью непараметрических критериев Манна—Уитни и Вилкоксона для независимых и зависимых выборок. Данные представлены в виде медианы Me , верхнего и нижнего квартилей (Q_1 — Q_3).

Результаты и обсуждение

После введения стрептозотоцина на фоне обогащенной жиром диеты у животных развивались характерные для СД симптомы — полиурия, полидипсия, полифагия. К началу исследования масса у разных животных снижалась на 14—30%, увеличивалась на 3—24% или не изменялась, чувствительность тканей к инсулину снижалась (рисунок).

При модели СД типа 2 уровень глюкозы в крови натощак составлял 10,1—32,0 ммоль/л, гликированного гемоглобина — 6,3—10,4%, концентрация ТГ увеличивалась в 8 раз, ХС — вдвое, суммарное содержание ЛПНП и ЛПОНП — втрое, концентрация МДА — в 4 раза, содержание фруктозамина — в 2,5 раза по сравнению с показателями интактных животных. Рост концентрации МДА свидетельствует о низкой устойчивости ЛПНП к окислению, повышенное содержание фруктозамина — о гликировании ЛПВП. Концентрация ХС-ЛПВП повышалась, не достигая уровня статистической значимости, индекс атерогенности становился в 3,5 раза больше, чем в норме (табл. 1, 2). Следовательно, повышение уровня метаболических маркеров СД и сопутствующие нарушения липидного обмена свидетельствуют о формировании модели СД типа 2 [1, 4].



Влияние экстракта крапивы (а) и метформина (б) на толерантность к инсулину при модели сахарного диабета типа 2. * — $p < 0,05$ по сравнению с уровнем глюкозы у животных с моделью сахарного диабета

Таблица 1

Влияние экстракта крапивы и метформина на концентрацию глюкозы и гликированного гемоглобина в крови при модели сахарного диабета типа 2 (Me (Q₁—Q₃))

Показатель		Модель СД +				
		обычный пищевой рацион	экстракт крапивы на фоне		метформин на фоне	
			диеты с высоким содержанием жира	обычного пищевого рациона	диеты с высоким содержанием жира	обычного пищевого рациона
Глюкоза, ммоль/л	Исходный	19,5 (15,3—22,9)	22,7 (18,9—28,5)	23,6 (20,3—32,0)	13,5 (10,3—25,1)	7,8 (5,9—9,7)
	В конце эксперимента	11,3 (10,1—19,4) ¹	14,3 (2,9—21,4) ¹	6,1 (3,6—8,1) ¹	10,4 (3,8—20,9)	7,5 (7,4—7,9) ¹
Гликированный гемоглобин, %	Исходный	7,7 (6,3—9,3)	8,6 (7,9—9,2)	8,7 (7,4—10,4)	7,8 (6,6—8,7)	8,1 (7,0—9,9) ¹
	В конце эксперимента	7,8 (5,9—9,7)	7,5 (7,4—7,9) ¹	8,1 (7,0—9,9) ¹	7,6 (7,1—8,2)	6,8 (5,8—8,8) ¹

¹ $p < 0,05$ по сравнению с исходным показателем

Таблица 2

Влияние экстракта крапивы и метформина на обмен липидов, концентрацию МДА в сыворотке крови, фруктозамина в липопротеинах высокой плотности, холестероловый индекс атерогенности, содержание гликогена в печени и скелетных мышцах при модели сахарного диабета типа 2 (Me (Q₁—Q₃))

Показатель	Интактные животные	Модель СД +					
		Диета с высоким содержанием жира	Обычный пищевой рацион	экстракт крапивы на фоне		метформина фоне	
				диеты с высоким содержанием жира	обычного пищевого рациона	диеты с высоким содержанием жира	обычного пищевого рациона
<i>Кровь</i>							
Триглицериды, ммоль/л	0,7 (0,4—1,2)	5,8 (3,2—10,9) ¹	0,7 (0,3—1,1) ²	1,0 (0,4—1,4) ²	0,4 (0,3—0,5) ^{1,2}	1,0 (0,5—1,3) ²	1,1 (0,8—1,4) ²
Общий холестерол, ммоль/л	1,6 (0,8—2,2)	3,3 (2,2—4,9) ¹	1,9 (0,8—2,6) ²	1,9 (1,8—2,1) ²	1,7 (1,4—2,1) ²	1,9 (1,6—2,1) ²	1,9 (1,7—2,3) ²
ХС-ЛПВП, ммоль/л	0,7 (0,5—1,0)	0,8 (0,5—1,2)	1,0 (0,3—1,5)	1,1 (0,9—1,2) ¹	0,7 (0,4—1,4)	1,1 (1,0—1,4) ¹	1,1 (0,8—1,5) ¹
ЛПНП + ЛПОНП, усл. ед.	6,5 (3,1—10,0)	34,2 (9,0—66,2) ¹	5,9 (3,0—13,1) ^{1,2}	5,4 (2,5—9,0) ²	3,5 (2,0—5,4) ^{1,2}	6,1 (3,0—9,8) ²	2,6 (0,3—4,4) ^{1,2}
МДА, мкмоль/мл сыворотки	1,0 (0,4—2,5)	4,0 (0,5—8,1) ¹	2,1 (1,4—2,7)	3,1 (1,7—4,1) ¹	0,8 (0,4—1,2) ²	2,1 (0,4—3,0)	1,6 (0,6—2,2)
Фруктозамин ЛПВП, нмоль/мг белка	1,9 (1,8—2,0)	4,7 (3,8—5,9) ¹	4,7 (4,2—5,3) ¹	3,0 (2,9—3,2) ^{1,2}	3,8 (3,5—4,3) ^{1,2}	3,7 (3,5—3,9) ^{1,2}	1,0 (0,9—1,1) ^{1,2}
Индекс атерогенности	1,4 (0,3—4,4)	4,5 (1,4—8,9) ¹	1,4 (0,3—5,6) ²	1,0 (0,4—1,8) ²	2,7 (0,6—4,4)	0,5 (0,2—0,7) ²	0,5 (0,2—0,8) ²
<i>Печень</i>							
Гликоген, мг/г	0,4 (0—2,3)	12,1 (1,4—28,6) ¹	4,2 (0,7—8,9) ¹	8,3 (3,3—10,8) ¹	1,2 (0,1—1,8) ^{1,2}	23,1 (9,4—34,4) ^{1,2}	22,0 (15,9—27,4) ^{1,2}
<i>Скелетные мышцы</i>							
Гликоген, мг/г	1,3 (0,8—2,0)	4,1 (2,8—6,3) ¹	4,0 (3,1—5,1) ¹	4,9 (2,8—6,5) ¹	1,7 (1,4—2,1) ²	3,4 (0,7—5,3)	5,0 (4,5—5,6) ¹

¹ $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными.

² $p < 0,05$ по сравнению с животными с моделью сахарного диабета.

Гликоген в печени интактных животных после голодания в течение 12—14 ч выявлялся в минимальном количестве. При модели СД типа 2 уровень гликогена в печени возрастал в 30 раз, в скелетных мышцах — втрое (см. табл. 2). Увеличение содержания гликогена в клетках различных тканей характерно для экспериментального СД и больных СД [11, 15].

Экстракт крапивы двудомной при модели СД типа 2 уменьшал на 31—74% содержание глюкозы в крови натошак и концентрацию гликогемоглобина с 8,6—8,7 до 8,1—7,5% ($p < 0,05$) по сравнению с показателями до лечения, нормализовал содержание ТГ, ХС, суммарное содержание ЛПНП и ЛПОНП, уменьшал степень гликирования ЛПВП у животных, получавших диету с повышенным содержанием жира и обычную диету. На фоне высококалорийной диеты экстракт крапивы увеличивал уровень ХС-ЛПВП и чувствительность к инсулину, снижал холестероловый индекс атерогенности. У животных, находившихся на обычном пищевом рационе, экстракт крапивы восстанавливал устойчивость ЛПНП к окислению, уменьшал содержание гликогена в печени и мышцах (см. рисунок, табл. 1, 2). Масса животных умеренно, на 3—13%, снижалась независимо от калорийности питания. Эти данные свидетельствуют, что в реализации метаболических эффектов экстракта крапивы при экспериментальном СД участвует жировая ткань. Как известно, адипоциты, секретировав лептин, регулируют метаболизм липидов и чувствительность рецепторов к инсулину [4, 14].

Метформин в этом эксперименте снижал массу на 3—10%, уровень глюкозы на 59%, концентрацию гликогемоглобина с 7,6 до 6,8% ($p < 0,05$) лишь у животных, получавших обычный пищевой рацион, нормализовал содержание ТГ, ХС, суммы ЛПНП + ЛПОНП и индекс атерогенности независимо от пищевого режима (см. табл. 1, 2), что подтверждает результаты клинических исследований [2—5]. Способность метформина повышать чувствительность к инсулину регистрировалась у 60% животных, находившихся на обычном пищевом рационе. Под влиянием метформина в печени повышалось содержание гликогена (см. табл. 2).

В контрольной группе крыс кормили пищей с низким содержанием жиров без экспериментальной фармакотерапии. У этих животных уровень глюкозы в крови натошак уменьшался, однако содержание гликирован-

ного гемоглобина оставалось таким же, как до перевода на обычный пищевой рацион (см. табл. 1). Концентрация ТГ, ХС, липопротеинов, холестероловый индекс атерогенности нормализовались, остальные показатели липидного обмена и содержание гликогена в тканях не отличались от показателей при модели СД типа 2. Масса животных снижалась на 4—12% ($p < 0,05$). Такие результаты демонстрируют, что низкокалорийная диета не может нормализовать метаболизм при СД типа 2.

Таким образом, экстракт крапивы двудомной улучшает метаболизм глюкозы и снижает атерогенность липопротеинов при модели СД типа 2, в том числе на фоне диеты, обогащенной жиром. Метформин оказывает противодиабетическое действие только при экспериментальном СД в сочетании с обычным пищевым рационом.

Выводы

1. Экстракт крапивы при курсовом введении в дозе 100 мг/кг массы тела при модели СД типа 2, вызванного стрептозотоцином, снижал в крови уровень глюкозы и гликогемоглобина, содержание гликогена в тканях, восстанавливал чувствительность к инсулину.
2. Экстракт крапивы при модели СД типа 2 нормализовал содержание в крови триглицеридов, общего холестерина, липопротеинов, уменьшал степень гликирования ЛПВП, индекс атерогенности, повышал устойчивость ЛПНП к окислению.
3. Диета с низким содержанием жиров улучшала метаболические показатели при модели СД типа 2 в меньшей степени, чем фармакотерапия.

Литература

1. *Алгоритмы* специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / под ред. И.И. Дедова, В.М. Шестаковой. М.: Медиасфера, 2009. 104 с.
2. Анциферов М.Б. Сахарный диабет 2 типа: возможность достижения оптимального контроля без побочных эффектов // Фарматека. 2011. № 3. С. 10—16.
3. Ахметов Ф.С. Перспективы лечения сахарного диабета в ближайшие 10 лет // Рус. мед. журн. 2005. Т. 13, № 6. С. 288—294.
4. Демидова Т.Ю. Коррекция инсулинорезистентности — рациональный способ управления сахарным диабетом 2 типа // Трудный пациент. 2007. Т. 5, № 12—13. С. 1—8.
5. Древаль А.В., Мисникова И.В., Триголосова И.В. и др. Влияние метформина на углеводный и липидный обмен у лиц с ранними нарушениями углеводного обмена // Сахарный диабет. 2010. № 2. С. 63—67.

6. Камышиников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Минск: Беларусь, 2000. 363 с.
7. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высшая школа, 1980. 272 с.
8. Куликова А.И., Тугушева Ф.А., Зубина И.М. и др. Методические аспекты оценки потенциальной способности липидов к перекислению по уровню ТБК-активных продуктов сыворотки крови при стимуляции ионами железа // Клинич. лаб. диагностика. 2008. № 5. С. 8—10.
9. Рабочая группа по диабету и сердечно-сосудистым заболеваниям Европейского общества кардиологов и Европейской ассоциации по изучению сахарного диабета. Рекомендации по лечению сахарного диабета, предиабета и сердечно-сосудистых заболеваний // Сахарный диабет. 2008. № 1. С. 86—92.
10. Толкачёва В.В., Кичигина Т.М., Кобалава Ж.Д. Современные антигипергликемические препараты: механизмы действия и клинические эффекты // Клинич. фармакология и терапия. 2009. Т. 18, № 2. С. 75—82.
11. Яглов В.В. Ультраструктурный анализ влияния аллоксана на клеточные элементы поджелудочной железы рептилий // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1977. Т. 84, № 8. С. 245—247.
12. American Diabetes Association; National Heart, Lung and Blood Institute; Juvenile Diabetes Foundation International; National Institute of Diabetes and Kidney Disease; American Heart Association. Diabetes mellitus: a major risk factor for cardiovascular disease // Circulation. 1999. V. 100, № 2. P. 1132—1133.
13. Carrol N., Longley R., Roe J. The determination of glycogen in liver and muscle by use of antrone reagent // Biol. Chem. 1956. V. 220, № 2. P. 583—593.
14. Levandowski P.A., Cameron-Smith D., Jacson C.J. et al. The role of the development of obesity and diabetes in Israel sand rats // J. Nutr. 2010. V. 259, № 9. P. 1984—1988.
15. Yadav H., Jain S., Prasad G. et al. Preventive effect of diabeton, a polyherbal preparation, during progression of diabetes induced by high-fructose feeding in rats // J. Pharmacol. Sci. 2007. V. 105, № 9. P. 12—21.

Поступила в редакцию 05.05.2011 г.

Утверждена к печати 01.06.2011 г.

Сведения об авторах:

Т.В. Якимова — канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

О.Н. Насанова — аспирант кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

М.В. Мелешко — канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

В.Н. Буркова — д-р хим. наук, профессор кафедры фармацевтической технологии СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции:

Насанова Очирма Насаковна, e-mail: o.nasanova@mail.ru