

нечелюстного сустава и зависеть от конкретной клинической ситуации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дмитриенко С. В., Гариб Б. М., Зайченко С. И. // Вестн. ВолГМУ. – 2000. – № 6. – С. 211–213.
2. Каламкаргов Х. А. // Стоматология. – 1996. – Т. 75, № 1. – С. 53–60.
3. Каливрадзинян Э. С., Лещева Е. А., Картавцева Н. Г. и др. // Стоматология. – 1999. – Т. 78, № 2. – С. 31–33.
4. Кибкало А. П., Линченко И. В., Стекольников Н. В. // Актуальн. вопр. стоматологии. – Волгоград, 1996. – С. 160–164.
5. Николенко В. Н., Сальников В. Н., Музурова Л. В. // УДК 615.451.16:615.24:615.322:616.379–008.64–085.24

Вестн. проблем биол. и медицины. – Полтава, 2003. – № 3. – С. 30–31.

6. Персин Л. С. Ортодонтия. Лечение зубочелюстных аномалий. – М.: Ортодент-Инфо, 1999. – 298 с.
7. Рабухина Н. А., Аржанцев А. П. // Тр. VII Всеросс. съезда стоматологов. – М., 2001. – С. 219–221.
8. Хватова В. А., Ступников А. А. // Новое в стоматологии. – 2001. – № 1 (91). – С. 25–33.
9. Braun S. // Am. J. Orthod. Dentofacial. Orthop. – 1996. – № 109 (6). – P. 635–638.
10. Stratmann U., Schaarschmidt K., Santamaria P. // J. Oral. Pathol. Med. – 1996. – № 25 (5). – P. 200–205.
11. Wish-Baratz S., Hershkowitz I., Arensburg B., et al. // Am. J. Phys. Anthropol. – 1996. – № 101 (3). – P. 387–400.

ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТА ГИМНЕМЫ ЛЕСНОЙ

А. А. Спасов, М. П. Самохина, В. Б. Писарев, Г. Л. Снигур, Д. Ю. Агарков,
Е. В. Сорокина, А. Е. Буланов

Кафедра фармакологии, кафедра патологической анатомии,
кафедра ботаники и фармакогнозии ВолГМУ,
Российский НИИ здоровья, г. Москва

Сухой экстракт Гимнемы лесной (*Gymnema sylvestre*) обладает гипогликемической активностью, сопоставимой с препаратом сравнения диабетоном. Экстракт повышает коэффициент поглощения глюкозы изолированной диафрагмой у крыс, способствует снижению скорости и продолжительности гипергликемии при проведении перорального глюкозотолерантного теста, увеличивает объемную долю панкреатических островков и площадь ядер β -эндокриноцитов.

Ключевые слова: гипогликемическая активность, Гимнема лесная, β -эндокриноциты.

HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF GYMNEMA SYLVESTRE EXTRACT

A. A. Spasov, M. P. Samokhina, V. B. Pisarev, G. L. Snigur, D. Yu. Agarkov.,
E. V. Sorokina, A. E. Bulanov*

Abstract. Dry extract of *Gymnema sylvestre* is characterized by hypoglycemic activity if compared with diabeton. Its extract lead to an increase in glucose absorption factor by isolated diaphragm in rats. It promoted a decrease in the rate and duration of hyperglycemia in peroral glucose tolerance test. It also increases the volumetric part of pancreatic islets, leading to a moderate hypertrophy of β -endocrinocyte nuclei.

Key words: hypoglycemic activity, *Gymnema sylvestre*, pancreatic β -cells.

Экстракт Гимнемы лесной (ГЛ) может рассматриваться как один из возможных источников для получения препаратов, используемых в лечении сахарного диабета [5, 9]. Экспериментальные и клинические исследования позволяют предположить, что гипогликемическая активность ГЛ обусловлена стимуляцией высвобождения инсулина и, возможно, регенерацией β -клеток островков Лангерганса [3, 4, 6–8], активизацией ферментов, ответственных за утилизацию глюкозы тканями и ингибирование поглощения глюкозы в кишечнике [3]. После применения экстракта ГЛ отмечается снижение уровня общего холестерина и триглицеридов [8].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнить и изучить гипогликемическую активность различных экстрактов ГЛ, детализиро-

вать механизм их действия.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились с использованием сертифицированных препаратов сухих экстрактов ГЛ в 25, 50, 75 %-х гравиметрических концентрациях (СКС "Альянс", № сертификата анализа GYM-030706 от 06.2003). Эксперименты выполнены на 100 белых беспородных крысах весом 280–300 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария на полнорационной сбалансированной по содержанию питательных веществ диете для лабораторных животных мышей и крыс (ГОСТ Р 50258-92). Экспериментальные исследования проводились согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96) [2].

Гипогликемическое действие ГЛ при одно-

(21)

кратном пероральном введении изучалось в дозах от 70 до 1120 мг/кг. Сахар определялся в крови, забираемой из хвостовой вены животных, ферментативным способом с использованием наборов "Глюкоза ФКД" (Россия). При проведении глюкозотолерантного теста экстракты ГЛ вводили перорально натощак в дозе 280 мг/кг. Углеводную нагрузку проводили через 1 ч после приема экстракта ГЛ внутрижелудочным введением глюкозы в дозе 3 г/кг. Содержание сахара в крови определяли после введения через каждые 20 мин в течение 2 ч. В качестве препарата сравнения использовали диабетон ("Сервье", Франция) в дозе 10 мг/кг. Влияние ГЛ на утилизацию глюкозы периферическими тканями изучалось на изолированной диафрагме крыс. Опытным группам животных в течение 30 дней при одинаковом, стандартном пищевом рационе вводили водный раствор экстрактов ГЛ в дозе 280 мг/кг. За 14 ч до эксперимента крыс подвергали пищевой депривации при свободном доступе к питью. Диафрагму извлекали после декапитации крыс, промывали на льду в физиологическом буфере и разделяли на 2 половины, одну из которых помещали в пробирку с Кребс-Рингер-бикарбонатным буфером (рН = 7,4), содержащим 11,1 ммоль/л глюкозы, а другую с тем же буфером, но в присутствии инсулина (0,05 ЕД/мл) ("Актрапид НМ", Дания). Исследуемые образцы инкубировали 2 ч в термостате при $t = 37^\circ\text{C}$. В пробах определяли остаточное содержание глюкозы глюкозооксидазным методом, после чего вычисляли коэффициент поглощения глюкозы (утилизированная глюкоза, мг/диафрагма, г). О чувствительности мышечной ткани к инсулину судили по количеству утилизированной глюкозы.

Для изучения влияния ГЛ на состояние панкреатических островков препарат вводили внутрижелудочно в дозе 280 мг/кг в течение 7 дней, затем осуществляли выведение животных из эксперимента [2] и проводили морфологическое исследование ткани поджелудочной железы (материал разделяли на три фрагмента: дуоденальный, желудочный и селезеночный), с последующей обработкой по общепринятым гистологическим методикам и окрашиванием гематоксилином и эозином. Анализ морфометрических параметров проводили с использованием программы "ВидеоТестМорфо-4" (г. Санкт-Петербург, Россия). Морфометрически оценивали площадь панкреатических островков (мкм^2), площадь ядер β -эндокриноцитов (мкм^2) и объемную долю панкреатических островков (%).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ "Statistica 5.1" ("StatSoft", США) и "Excel 2000" ("MS Office 2000", США). Проводился расчет базовых статистических показателей, характеризующих вариационные ряды с использованием парного t -кри-

терия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из представленных данных (рис. 1), экстракт ГЛ через 2 ч после введения оказывает гипогликемическое действие в 25 %-й концентрации; 50 %-й и 75 %-й препараты оказались менее эффективны. При этом противодиабетический препарат диабетон по абсолютной величине гипогликемического действия оказался эффективнее экстракта ГЛ.

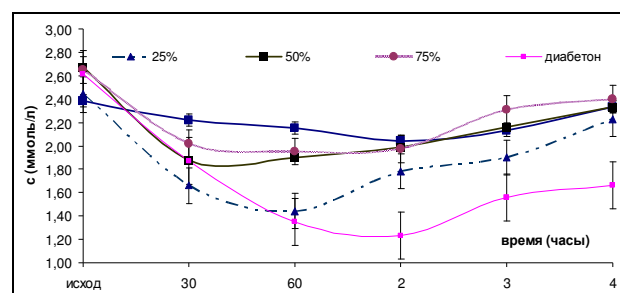


Рис. 1. Влияние сухих экстрактов ГЛ в гравиметрических концентрациях: 25, 50, 75 %-й при пероральном введении в дозе 280 мг/кг и диабетона (10 мг/кг) на уровень глюкозы в крови intactных крыс

При исследовании продолжительности гипогликемического действия изучаемых препаратов выявлено, что влияние 25 %-го экстракта на уровень глюкозы начинается через 30 мин после введения, на 21,64 % превалируя над исходными показателями, достигает максимума активности ко 2-му часу наблюдений (23,96 %, $p \leq 0,05$). Далее начинается постепенное снижение эффекта, и через 4 ч уровень глюкозы в крови практически идентичен контрольным значениям. Гликемия ко 2-му часу после введения 50 %-го экстракта снижается на 11,55 % по сравнению с контролем, однако к 4-му часу уровень сахара в крови незначительно превышает контрольные значения. Наибольшая эффективность при применении 75 %-го препарата отмечена через 2 ч после введения, при этом уступая по величине активности 25 %-му препарату в 2,5 раза. Зависимость гипогликемического эффекта от дозы 25 %-го экстракта отмечена в диапазоне от 70 до 280 мг/кг (рис. 2).

Так, в дозе 70 мг/кг сахароснижающий эффект был на 7,15 % ниже контрольного. При увеличении дозы (140 мг/кг) отмечается возрастание величины эффекта практически в два раза — до 12,11 %. Дальнейший рост дозы (280 мг/кг) приводит к удвоению величины гипогликемического эффекта. В дозах 560 и 1120 мг/кг отмечен выход величины эффекта на плато действия. Полученные данные определили целесообразность дальнейшего изучения 25 %-го экстракта ГЛ в дозе 280 мг/кг.

В группе животных, получавших 25 %-й пре-

парат, показатели влияния сухого экстракта ГЛ на поглощение глюкозы изолированной диафрагмой крыс (рис. 3) в 2 раза превосходят аналогичные у контрольной группы и соответствуют снижению ее количества в пробе на 16,07 % ($p \leq 0,05$).

В присутствии инсулина остаточная глюкоза определяется в количестве 7,12 ммоль/л, что соответствует достоверному снижению ее уровня на 30,8 % по отношению к контрольной пробе (буферный раствор с глюкозой и инсулином). Способность мышечной ткани к поглощению глюкозы, не зависящей от инсулина, была исследована при применении 50 и 75 %-го экстрактов.

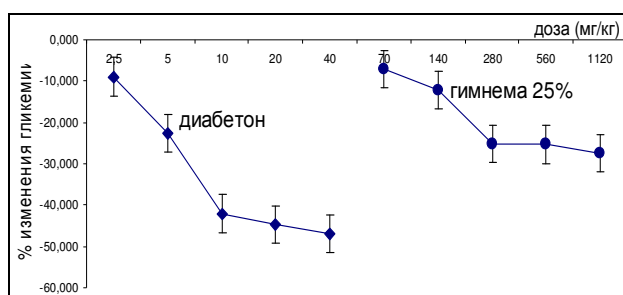


Рис. 2. Влияние сухого экстракта ГЛ в концентрации 25 % и диабетона при пероральном введении в различных дозах на уровень глюкозы в крови интактных крыс через 2 ч после введения веществ

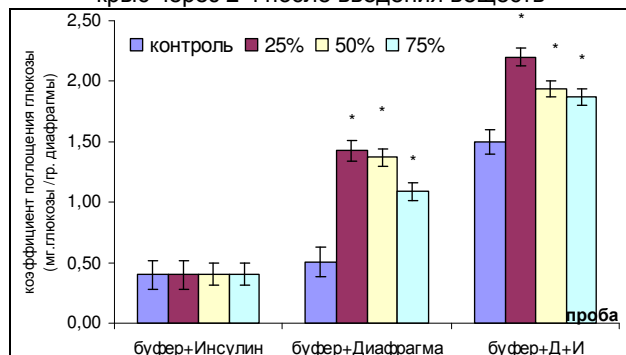


Рис. 3. Влияние экстракта ГЛ 25, 50, 75 %-й (280 мг/кг) при пероральном введении на поглощение глюкозы изолированной диафрагмой крыс

При этом в первой группе уровень остаточной глюкозы снижался на 15,5 %, а во второй – на 11,45 % по сравнению с контрольной пробой. Таким образом, применение экстракта ГЛ, вероятно, способствует интенсификации внутриклеточного транспорта глюкозы или ее утилизации.

После перорального введения глюкозы интактным крысам в дозе 3 г/кг отмечается резкое повышение концентрации сахара в крови, при этом оно доходит до максимального уровня уже к 30-й мин исследования, превышая исходные значения в 2 раза (рис. 4). Затем отмечается

плавное снижение концентрации сахара в крови, и ко второму часу гликемия незначительно превышает исходный уровень.

После внутрижелудочного введения 25 %-го экстракта (280 мг/кг) и диабетона (10 мг/кг) регистрировалось значительное снижение скорости и продолжительности гипергликемии, что подтверждалось снижением площади под кривой "концентрация глюкозы-время" на 16,56 и 27,56 % соответственно по сравнению с интактным контролем ($p < 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что выявленная величина гипогликемической активности 25 %-го препарата экстракта ГЛ меньше, чем у препарата сравнения – диабетона.

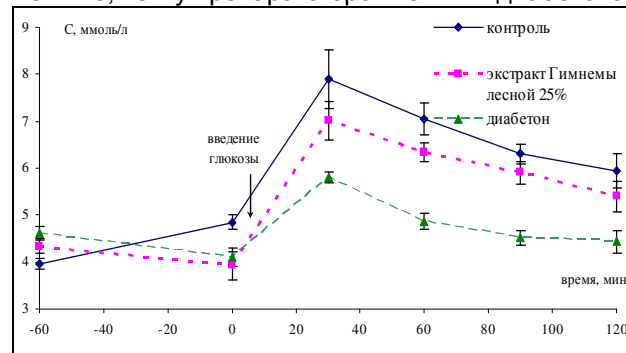


Рис. 4. Влияние экстракта ГЛ 25 %-й (280 мг/кг) и диабетона (8 мг/кг) на уровень гликемии интактных крыс после пероральной нагрузки глюкозой в дозе 3 г/кг

Однако этот факт можно объяснить тем, что 25 %-й экстракт либо снижает всасывание углеводов в кишечнике, что вполне согласуется с литературными данными [2, 8], либо повышает утилизацию глюкозы поперечно-полосатой мускулатурой, что согласуется с ранее проведенными исследованиями.

При морфологическом исследовании ткани поджелудочной железы в группе контрольных животных и животных, получавших экстракт ГЛ (25 %-й концентрации в дозе 280 мг/кг), обнаруживалось неравномерное полнокровие капилляров панкреатических островков. Данные изменения обнаруживались в панкреатических островках ткани поджелудочной железы во всех исследуемых отделах железы (рис. 5а).

Дистрофические, некротические и воспалительные изменения отсутствовали в обеих исследуемых группах. В группе животных, получавших экстракт ГЛ, при микроскопическом исследовании ядра β -эндокриноцитов были умеренно увеличены в размерах. По сравнению с группой контроля увеличение площади ядер β -эндокриноцитов отмечалось в 1,36 раза в дуоденальном отделе; в 1,29 раза – в желудочном отделе; в 1,25 раза – в селезеночном отделе.

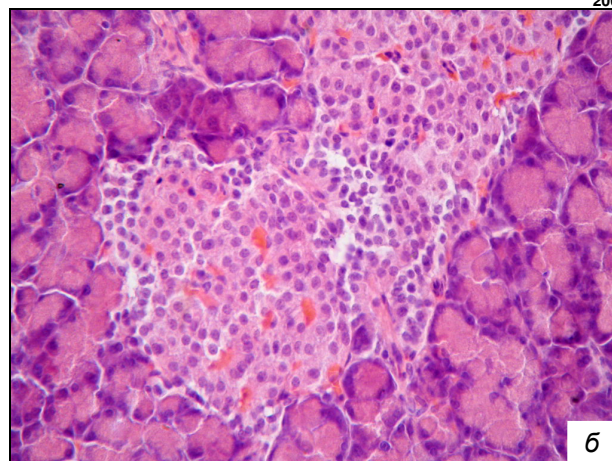
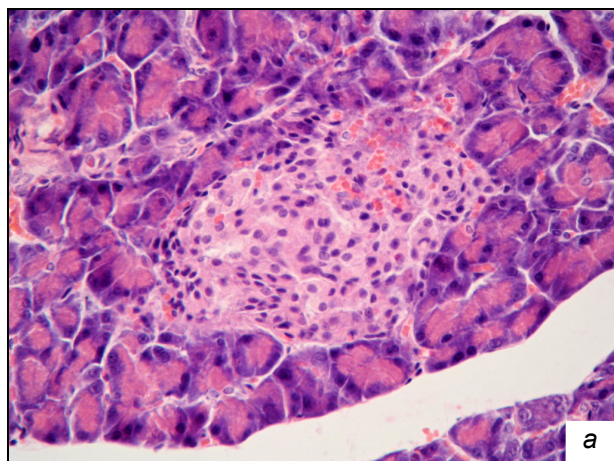


Рис. 5. Панкреатический островок:

а – intactные животные (контрольная группа); б – животные, получавшие сухой экстракт ГЛ в течение 7 дней в дозе 280 мг/кг.

Гипертрофия ядер β -эндокриноцитов. Окр. гематоксилином и эозином. Окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$

Различия площадей ядер эндокриноцитов между контрольной группой и группой животных, получавших экстракт ГЛ, носили статистически достоверный характер (см. табл.). Умеренно выраженная гипертрофия ядер эндокриноцитов прослеживалась во всех отделах поджелудочной железы, что свидетельствовало о повышенной функциональной активности β -эндокриноцитов (рис. 5б). Происходило увеличение объемной доли и площади панкреатических островков у животных изучаемых групп. Изменения данных морфометрических параметров носили статистически недостоверные различия.

Морфометрические параметры панкреатических островков, $M \pm m$

Группы	Дуоденальный отдел		
	Объемная доля островков, %	Площадь островков, мкм^2	Площадь ядер β -эндокриноцитов, мкм^2
Контроль	$6,8 \pm 2,5$	$39,4 \pm 16,9$	$22,3 \pm 2,5$
ГЛ	$7,1 \pm 3,1$	$59,1 \pm 34,2$	$30,4 \pm 1,5^*$
Желудочный отдел			
Контроль	$12,6 \pm 6,0$	$49,9 \pm 62,1$	$23,3 \pm 3,1$
ГЛ	$13,8 \pm 5,6$	$98,4 \pm 45,6$	$30,2 \pm 1,3^*$
Селезеночный отдел			
Контроль	$13,8 \pm 17,3$	$50,1 \pm 19,0$	$25,1 \pm 2,5$
ГЛ	$14,5 \pm 9,1$	$124,2 \pm 97,5$	$31,5 \pm 1,2^*$

* – статистически достоверные различия.

Полученные результаты согласуются с материалами исследований, в которых авторы показали, что применение ГЛ увеличивало эндогенный уровень инсулина, возможно, за счет регенерации β -эндокриноцитов поджелудочной железы [9]. Кроме того, существует вероятность, что гипертрофия β -эндокриноцитов происходит за

счет влияния ГЛ на повышение секреции в желудочно-кишечном тракте желудочного ингибиторного пептида [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований максимальное сахароснижающее действие экстракта ГЛ выявлено в 25 %-й концентрации в дозе 280 мг/кг через 2 ч после введения. Гипогликемический эффект при применении 25 %-го препарата превосходит активность 50 %-го и 75 %-го экстрактов, при этом уступая по величине активности препарату сравнения диабетону на 18 %. Кроме того, регистрируется снижение скорости и продолжительности гипергликемии в тесте глюкозотолерантной пероральной нагрузки, увеличение способности мышечной ткани к утилизации глюкозы и развитию умеренно выраженной гипертрофии ядер β -эндокриноцитов панкреатических островков, что в свою очередь может свидетельствовать о гиперфункции β -эндокриноцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Кремская В. М. Лечение сахарного диабета и его осложнений – М.: Медицина, 2005. – 512 с.
2. Правила лабораторной практики в Российской Федерации // Приказ Минздрава РФ от 19 июня 2003 г. № 267.
3. Fushiki T., Kojima A., Imoto T. // J. Nutr. – 1992. – Vol. 122. – P. 2367–2373.
4. Hong Luo, Le Feng Wang, Toshiaki Imoto, et al. // J. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 7 (1). – P. 9–15.
5. Persaud S. J. // J. Endocrinol. – 1999. – № 163. – P. 212.
6. Porchezian E., Dobriyal R. M. // Pharmazie – 2003. – Vol 58 (1). – P. 5–12.
7. Shigemasa N., Asano R., Shinosaka M., et al. // J. Vet. Med. Sci. – 1997. – Vol. 59 (4). – P. 245–51.
8. Wang L. F. // J. Physiol. Pharmacol. – 1998. – Vol. 76. – P. 1017–1023.
9. Yeh G. Y., Eisenberg D. M., Kaptchuk T. J., et al. // Diabetes Care. 2003. – Vol. 26 (4). – P. 1277–1294.