

УДК 615.451.16:615.24:615.322.616.379–008.64–085.24

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 глюкозотolerантного 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 ингибиование 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, детализировать 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 мы-

шей 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 однократном 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 глюкозотolerантного 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 ("Серье", 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 крысы 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 (pH = 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 внутривенно 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 -эндоцинов (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 -критерия 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.

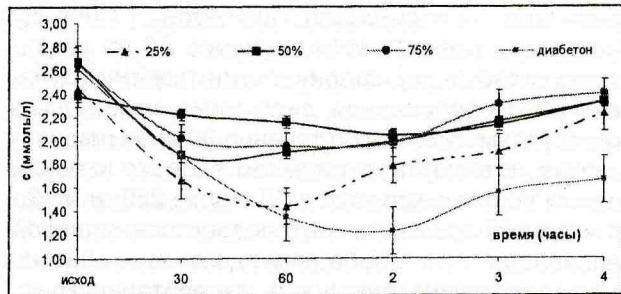


Рис. 1. Влияние сухих экстрактов ГЛ в гравиметрических концентрациях: 25, 50, 75 %-й при пероральном введении в дозе 280 мг/кг и диабетона (10 мг/кг) на уровень глюкозы в крови интактных крыс

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 препарат, 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.

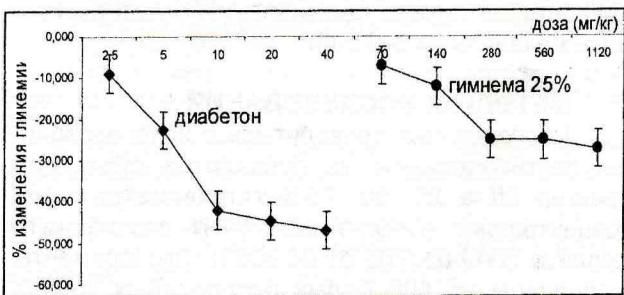


Рис. 2. Влияние сухого экстракта ГЛ в концентрации 25 % и диабетона при пероральном введении в различных дозах на уровень глюкозы в крови интактных крыс через 2 ч после введения веществ

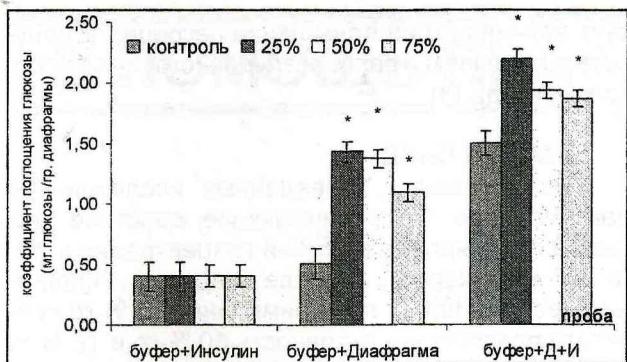


Рис. 3. Влияние экстракта ГЛ 25, 50, 75 %-й (280 мг/кг) при пероральном введении на поглощение глюкозы изолированной диафрагмой крыс

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.

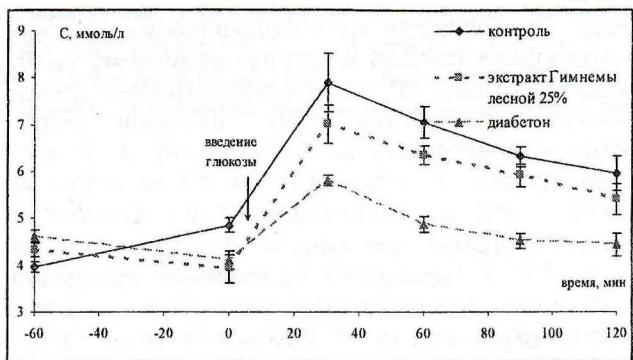
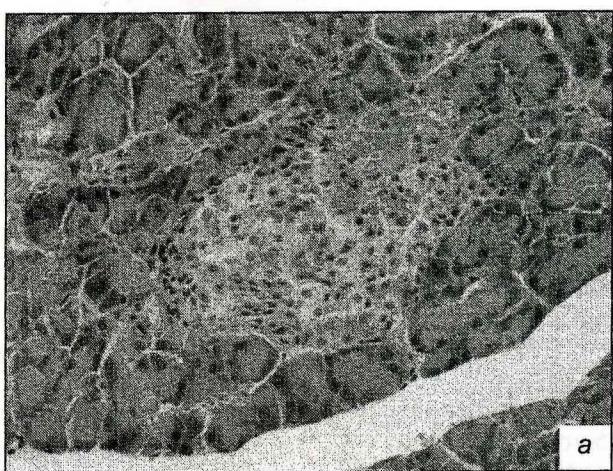


Рис. 4. Влияние экстракта ГЛ 25 %-й (280 мг/кг) и диабетона (8 мг/кг) на уровень гликемии интактных крыс после пероральной нагрузки глюкозой в дозе 3 г/кг

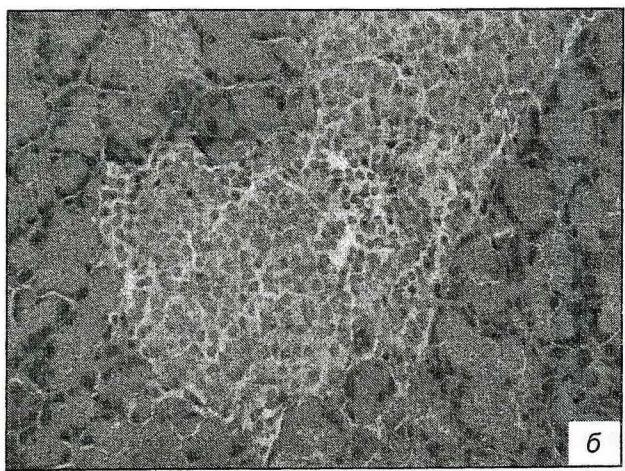
Однако этот факт можно объяснить тем, что 25 %-й экстракт либо снижает всасывание углеводов в кишечнике, что вполне согласуется с литературными данными [2, 8], либо повышает утилизацию глюкозы поперечно-полосатой мускулатурой, что согласуется с ранее проведенными исследованиями.

При морфологическом исследовании ткани поджелудочной железы в группе контрольных животных, 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.



а



б

Рис. 5. Панкреатический островок:

а – интактные животные (контрольная группа); б – животные, получавшие сухой экстракт ГЛ в течение 7 дней в дозе 280 мг/кг. Гипертрофия ядер β -эндокриноцитов. Окраска 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, μm^2	Площадь ядер β -эндокриноцитов, μm^2
Контроль ГЛ	6,8±2,5	39,4±16,9	22,3±2,5
	7,1±3,1	59,1±34,2	30,4±1,5*
Желудочный отдел			
Контроль ГЛ	12,6±6,0	49,9±62,1	23,3±3,1
	13,8±5,6	98,4±45,6	30,2±1,3*
Селезеночный отдел			
Контроль ГЛ	13,8±17,3	50,1±19,0	25,1±2,5
	14,5±9,1	124,2±97,5	31,5±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 teste глюкозотolerантной 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

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