

ФАРМАКОЛОГИЯ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

АНТИОКСИДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРА МАКСАРА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ

В. И. Янькова¹, И. Л. Иванова¹, С. А. Федорев², Н. И. Кулеш²

Гепатопротектор растительного происхождения максар, содержащий полифенолы, оказывает антиоксидантное действие при экспериментальном сахарном диабете, индуцированном аллоксаном. Максар снижает интенсивность процессов перекисного окисления липидов, нормализует в печени содержание продуктов их окисления (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, Шиффовы основания). Регулирует систему антиоксидантной защиты преимущественно через глутатионзависимые ферментативные механизмы и детоксикацию гидропероксидных липидных радикалов, повышая уровень эндогенных антиоксидантов.

Ключевые слова: гепатопротектор, максар, антиоксидантное действие, перекисная липидов, экспериментальный диабет

ВВЕДЕНИЕ

Развитие аллоксанового диабета сопровождается усилением свободнорадикального окисления липидов и угнетением активности антиоксидантных ферментов, утилизирующих липопероксиды [3].

Актуальной задачей является поиск природных антиоксидантов, позволяющих корригировать нарушения этих процессов. Перспективными являются препараты растительного происхождения, содержащие полифенольные соединения.

Препарат максар, полученный из экстракта *Maackia amurensis* Rupr. et Maxim. (*Leguminosae*) — реликтовое растения Дальнего Востока, содержит более 10 фитостероидов, принадлежащих к различным классам природных полифенолов [17]. Значительная часть этих веществ представлена изофлавоноидами (даидзеин, афромозин, формонетин, генистеин, ретузин). К другой группе веществ, составляющих не менее 30% экстракта, относятся гидроксилированные стильбены (пицетатаннол, резвератрол) [13]. Экстракт из древесины мааки амурской содержит также димерные стильбены (сцирпусин А, сцирпусин Б, маакин) [12], изофлавоностилбен (мааказин) [11], стильбенолигнан (мааколин) [18], птерокарпаны (медикарпин, маакнин) [17].

Полифенольный комплекс из *M. amurensis* является эффективным гепатопротектором, нормализует метаболизм, функцию и структуру паренхимы печени при

остром ССЛ₄-гепатите у крыс. Терапевтический эффект полифенолов *M. amurensis*, обусловленный их антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием, значительно превосходит гепатопротекторный препарат силибор по способности препятствовать угнетению антиоксидантной функции печени при ССЛ₄-гепатите [5]. Клинические испытания максара подтвердили его высокую эффективность при лечении больных хроническим гепатитом и циррозом печени вирусной и алкогольной этиологии. При этом терапевтическое действие максара, обусловленное антиоксидантным и желчегонным эффектами, превосходит препарат карсил [1].

Целью данной работы явилось изучение антиоксидантных свойств максара в эксперименте на модели аллоксанового диабета.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

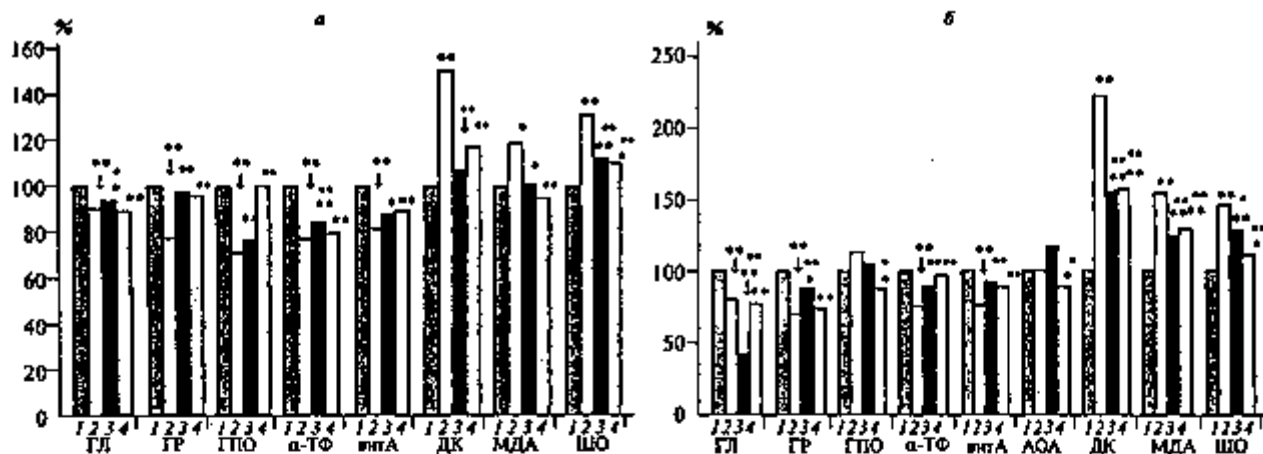
Для исследований использовали препарат, разработанный в Тихоокеанском институте биоорганической химии ДВО РАН [14] и разрешенный к применению в качестве средства гепатозащитного действия в лекарственной форме (таблетка), содержащей 60 мг экстракта мааки амурской (Постановление Фармакологического государственного комитета МЗ РФ от 15.01.98).

Эксперименты проводили на 40 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 200–250 г. Животные были разделены на 4 группы: 1-я — контрольная, 2-я — с моделью инсулинзависимого диабета; животные 3-й и 4-й групп после развития диабета получали максар в дозе 120 и 240 мг/кг массы животного соответственно.

Модель инсулинзависимого диабета воспроизводили внутримышечным введением аллоксана в суммар-

¹ Владивостокский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАН — НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток, 690039, ул. Русская, 17 Б.

² Тихоокеанский институт биоорганической химии Дальневосточного отделения РАН, Владивосток, 690022, пр. 100 лет Владивостоку, 159.



Изменение показателей системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при действии максара в печени (а) и крови (б) животных с аллоксановым диабетом.

По оси абсцисс — показатели системы ПОЛ — АОЗ, по оси ординат — изменение показателей (в %) относительно контрольной группы, уровень показателей которой принят за 100%. Различия достоверны: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ — по сравнению с контрольной группой; + — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ по сравнению с моделью аллоксанового диабета. 1 — контроль, 2 — диабет, 3 — диабет + максар (120 мг/кг), 4 — диабет + максар (240 мг/кг)

ной дозе 180 мг/кг массы животного. Для предупреждения гибели животных от острой формы диабета суммарную дозу аллоксана вводили дробно в возрастающих дозах 40, 60 и 80 мг/кг с интервалом 7 дней. Возникновение сахарного диабета контролировали по динамике глюкозы крови, взятой из хвостовой вены крыс, и гистологическим изменениям поджелудочной железы.

Животным с моделью аллоксанового диабета максар вводили в желудок за 30 мин до кормления на протяжении 30 дней в виде водной суспензии, приготовленной тщательным растиранием таблеток препарата в дистиллированной воде. Животные контрольной группы аналогичным способом получали дистиллированную воду соответствующего объема. Животных декапитировали под легким эфирным наркозом.

Процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в печени и крови дневных конъюгатов (ДК) [6], малонового диальдегида (МДА) [6, 7] и оснований Шиффа (ШО) [21]. О состоянии системы антиоксидантной защиты (АОЗ) судили по интегральному показателю антиоксидантной активности (АОА) плазмы крови [9], в крови и печени по уровню восстановленного глутатиона (ГЛ) [20], активности глутатионзависимых ферментов — глутатионпероксидазы (ГПО) [8] и глутатионредуктазы (ГР) [19, 22], содержание α-токоферола (α-ТФ) [15, 16] и витамина А [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование диабета по модифицированной схеме введения аллоксана происходит в течение 21 дня и сопровождается увеличением содержания глюкозы в крови в 1,4 раза до значения $2,88 \pm 0,06$ ммоль/л ($p < 0,01$). По истечении этого срока у крыс 2-й груп-

пы обнаруживали деструктивные изменения в инкреторной ткани поджелудочной железы, аналогичные нарушениям, характерным для модели аллоксанового диабета, индуцированного однократным внутривенным введением диабетогенной дозы аллоксана (40 мг/кг массы животного) [10].

Развитие аллоксанового диабета сопровождалось возникновением окислительного стресса, характеризующегося наиболее интенсивным протеканием процессов ПОЛ на стадии образования первичных продуктов, о чем свидетельствовало накопление ДК по сравнению с другими продуктами ПОЛ в печени и крови экспериментальных животных (повышение в 1,5 и 2,2 раза соответственно, рисунок а, б). Следует отметить более выраженную активность процессов свободнорадикального окисления в крови, обусловленную способностью аллоксана индуцировать повышенное образование активных форм кислорода в биологической среде с высоким содержанием молекулярного кислорода, так как механизм повреждающего действия аллоксана связан с потреблением восстановительных эквивалентов и кислорода [2]. Снижение уровня восстановленного глутатиона, активности ГР, разнонаправленность изменений активности ГПО в печени и в крови животных при аллоксановом диабете указывают на истощение восстановительных эквивалентов и угнетение антирадикального звена АОЗ. Недостаточность неферментативного звена АОЗ при диабете сопровождается дефицитом обеспеченности организма витаминами антиоксидантного действия. Выявлено уменьшение содержания ретинола и α-токоферола в печени и крови экспериментальных животных.

Действие максара при аллоксановом диабете на состояние системы ПОЛ — АОЗ свидетельствует о выраженных антиоксидантных свойствах препарата, заключающихся в ингибировании свободнорадикальных

процессов и активации процессов антиоксидантной защиты на органном и клеточном уровнях. Установлено достоверное уменьшение концентрации продуктов перекисидации липидов (ДК, МДА, ШО) в печени и в крови животных с индуцированным диабетом. Обе дозы препарата (120 и 240 мг/кг) в равной степени снижают исходно повышенное содержание ДК, МДА в печени и эритроцитах крови в 1,4 раза ($p < 0,01$) и 1,2 раза ($p < 0,01$) соответственно, в печени животных — до уровня физиологической нормы интактных животных (рисунок, а). Так как свободнорадикальное окисление липидов в эритроцитах крови протекает более интенсивно, чем в печени, применяемые дозы максара недостаточны для полного ингибирования процессов ПОЛ в крови. Поэтому при использовании обеих доз препарата содержание ДК, МДА и ШО в крови животных с диабетом остается на достаточно высоком уровне и не достигает соответствующих показателей у животных контрольных групп, несмотря на их положительную динамику (рисунок, б). Большая доза максара более интенсивно подавляет способность продуктов ПОЛ, содержащих карбонильную группу, образовывать основания Шиффа в крови (в 1,4 раза, $p < 0,01$), меньшая доза — в 1,2 раза ($p < 0,01$) как в крови, так и в печени животных.

Максар оказывает наиболее выраженное корригирующее действие на содержание ДК, что свидетельствует об ингибировании этим препаратом стадии образования первичных продуктов ПОЛ, так как обнаружение диеновой конъюгации в биологических мембранах является чувствительным тестом на появление гидроперекисей липидов [4]. Этот факт позволяет предположить действие максара как "ловушки радикалов", что обусловлено содержанием в его составе полифенолов, механизм антиоксидантного действия которых заключается в связывании свободных радикалов и предотвращении развития новых цепей окисления липидов. Такой механизм действия максара подтверждается динамикой содержания эндогенного α -токоферола. Обе дозы препарата повышают в крови экспериментальных животных исходно пониженные при аллоксановом диабете количества низкомолекулярных антиоксидантов витаминного звена (α -ТФ, витамин А), концентрации которых возрастают и достигают уровня таковых у интактных животных. Содержание α -ТФ у животных при действии максара в дозе 120 мг/кг достоверно увеличивается в крови на 19% и в печени — на 10%, в дозе 240 мг/кг в крови — на 29%, а в печени практически остается без изменений. Поскольку первичные повреждения при аллоксановом диабете вызываются активными формами кислорода, инактивация которых происходит на первой линии АОЗ и не может осуществляться полифенольными соединениями, то антиоксидантный эффект максара начинает проявляться на второй линии АОЗ. Вероятно, полифенольные составляющие максара конкурируют с

α -ТФ, заменяя его в реакции детоксикации активных гидропероксидных радикалов липидов и перехватывая у них неспаренный электрон, тем самым способствуют частичному восстановлению резерва эндогенного α -ТФ.

Введение экзогенных веществ полифенольной природы, усиливающих вторую линию антирадикальной защиты, оказывает влияние и на третью линию АОЗ, представленную глутатионзависимыми ферментами (ГПО), а также системами биорегенерации окисленного глутатиона (ГР).

Действие максара на редокс-систему глутатиона в печени и крови при аллоксановом диабете было разнонаправленным в зависимости от дозы препарата. В печени животных меньшая доза максара усиливала процесс биорегенерации глутатиона, который сопровождался повышением содержания восстановленного глутатиона, активности ГР до физиологической нормы при сохранении активности ГПО на уровне животных с моделью диабета. Большая доза максара регулировала только активность глутатионзависимых ферментов печени, восстанавливая ее до уровня животных контрольной группы. Активность ГР и ГПО в печени животных, получавших максар в дозе 240 мг/кг, соответственно возрастает в 1,2 и 1,5 раза, а в дозе 120 мг/кг — в 1,3 раза (рисунок, а). В крови наблюдаются незначительные изменения активности антиоксидантных ферментов: активность ГПО уменьшается при действии максимальной дозы в 1,3 раза, ГР возрастает при использовании минимальной дозы в 1,3 раза (рисунок, б). Минимальная доза максара при этом не препятствует снижению уровня глутатиона в крови при аллоксановом диабете, что указывает на истощение его резервов как кофермента, инактивирующего свободные радикалы в присутствии ГПО, активность которой при этом не изменяется.

В динамике глутатионзависимых ферментов печени отмечаются более выраженные позитивные тенденции по сравнению с кровью, заключающиеся в статистически достоверном повышении этих показателей до физиологической нормы интактных животных. Полученные результаты подтверждают способность максара сохранять в печени ресурсы восстановленного глутатиона и поддерживать функцию глутатионзависимых ферментов независимо от природы повреждающего агента, вызывающего свободнорадикальный патологический процесс.

ВЫВОДЫ

1. Гепатопротектор максар (120 и 240 мг/кг) при аллоксановом диабете снижает интенсивность процессов свободнорадикального окисления липидов на стадии образования гидропероксидов липидов и активирует первую и вторую линии антирадикальной защиты.

2. Антиоксидантное действие максара обусловлено его способностью инактивировать свободные радикалы и восстанавливать резервы эндогенных антиоксидантов (α -токоферол, ретинол) в крови животных с экспериментальным диабетом, регулировать глутатионзависимые ферментативные антиоксидантные механизмы печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. И. Белобородова, А. И. Венгеровский, Р. О. Гайсаев и др., *Сиб. журн. гастроэнтерол. и гепатол.*, № 8, 46–48 (1999).
2. В. Н. Бобырева, В. Ф. Почеряева, И. Л. Думенко, Л. Н. Бобырева, *Пробл. эндокринол.*, 38(6), 55–57 (1992).
3. Л. Е. Бобырева, *Экспер. и клин. фармакол.*, 61(1), 74–80 (1998).
4. Е. М. Васильева, *Бюл. экпер. биол.*, № 5, 495–496 (1992).
5. А. И. Венгеровский, И. М. Седых, Т. В. Власова, А. С. Сяргачков, *Раст. ресурсы*, вып. 3, 95–99 (1993).
6. Ю. А. Владимиров, А. Ю. Арчаков, *Перекисное окисление липидов биологических мембран*, Наука, Москва (1972).
7. М. С. Гончаренко, А. М. Латина, *Лаб. дело*, № 1, 60–61 (1985).
8. С. М. Гуревич, *Исследование синтетических и природных антиоксидантов in vitro и in vivo*, Наука, Москва (1992).
9. Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, Ю. О. Тесёлкин, *Лаб. дело*, № 5, 59–62 (1988).
10. В. И. Корчан, В. З. Ланкин, Р. Д. Яркова и др., *Бюл. экпер. биол.*, № 9, 279–282 (1992).
11. О. Е. Кривошекова, О. Б. Максимов, Л. С. Степаненко, *Химия природ. соединений*, № 1, 39–42 (1986).
12. Н. И. Кулеш, В. В. Исаков, О. Б. Максимов, *Химия природ. соединений*, № 5, 468–476 (1992).
13. О. Б. Максимов, О. Е. Кривошекова, Л. С. Степаненко, Л. В. Богуславская, *Химия природ. соединений*, № 6, 775–781 (1985).
14. О. Б. Максимов, Н. И. Кулеш, С. А. Федорев и др., *ПАТ № 2104027 РФ, Бюл. открыт.*, № 4 (1998).
15. Р. Ч. Черняускене, З. З. Варшквичене, П. С. Грибаускас, *Лаб. дело*, № 6, 362–365 (1984).
16. W. R. Bidlack and A. L. Tappel, *Lipids*, 8(4), 203–207 (1973).
17. S. A. Fedoreyev, T. V. Pokushalova, M. V. Veselova, et al., *Phytotherapy*, 71, 365–372 (2000).
18. N. I. Kulesh, V. V. Isakov, and O. B. Maksimov, *Phytochemistry*, 40, 1001–1003 (1995).
19. Y. T. Martinez and A. M. Torres, *Comp. Biochem. Physiol.*, 80(28), 355–360 (1985).
20. M. S. Moron, J. W. Depierre, and B. Mannervik, *Biochim. Biophys. Acta*, 582, 67–78 (1979).
21. H. Shimasaki, N. Hirai, and N. Ueta, *J. Biochem.*, 104, 761–766 (1988).
22. I. K. Smith, T. L. Verhell, and C. A. Thorne, *Anal. Biochem.*, 75, 408–413 (1988).

Получена 07.07.2001

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE HEPATOPROTECTOR MAXAR IN EXPERIMENTAL DIABETES

V. I. Yan'kova¹, I. L. Ivanova¹, S. A. Fedoreev², and N. I. Kulesh²

¹ Vladivostok Department of the Far-Eastern Scientific Center of Breathing Physiology and Pathology, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, Institute of Medical Climatology and Restorative Therapy, ul. Russkaya 17b, Vladivostok, 690039 Russia

² Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Division, Russian Academy of Sciences, pr 100-Letiya Vladivostoka 159, Vladivostok, 690022 Russia

Maxar, a hepatoprotector of plant origin containing polyphenols, exhibits an antioxidant effect in animals with alloxane-induced diabetes. The administration of maxar reduces the intensity of lipid peroxidation (LPO) and normalizes the level of LPO products (diene conjugates, malonic dialdehyde, Schiff bases) in liver. The drug produces regulation of the protective antioxidant system primarily by increasing the level of endogenous antioxidants via activation of the glutathione-dependent enzymatic mechanisms and detoxication of lipid hydroperoxide radicals.