

О. А. Сапко, А. К. Турсунова, А. О. Абайлдаев, О. В. Чебоненко,
А. В. Красноштанов, А. Ш. Утарбаева

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ *AGRIMONIA ASIATICA* И *GERANIUM COLLINUM* НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ КРОВИ КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

РГП "Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина" Комитета науки МОН РК, Казахстан, 050012, Алматы; e-mail: a.utar@mail.ru

Изучено влияние 70 % этанольных экстрактов надземной части *Agrimonia asiatica* Juz. (Д1) и корней *Geranium collinum* Steph. (Д2) на перекисное окисление липидов (ПОЛ) и активность антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатион-пероксидазы (ГП) и глутатион-редуктазы (ГР) плазмы и эритроцитов крови крыс с аллоксан-индуцированным диабетом. Для Д1 и Д2 установлен достоверный эффект снижения ПОЛ в мембранах эритроцитов (на 51 – 80 %). Для экстракта Д1 установлен эффект индукции активности СОД плазмы (в 1,5 – 2,6 раза) и КАТ эритроцитов (в 1,6 – 2,3 раза). Д2 индуцировал активность СОД (в 1,5 – 1,8 раз), КАТ (в 1,9 – 2,7 раз) и ГР эритроцитов (в 1,4 – 1,9 раз). Для обоих субстратов, Д1 и Д2, установлен статистически достоверный эффект подавления активности ГР плазмы (на 7 – 18 %) и эффект снижения индуцированного аллоксаном повышения активности ГП эритроцитов (на 20 – 60 %).

Ключевые слова: *Agrimonia asiatica*; *Geranium collinum*; 70 % этанольные экстракты; аллоксановый диабет; перекисное окисление липидов; антиоксидантные ферменты.

Важную роль в патогенезе и развитии сосудистых осложнений сахарного диабета (СД) играет окислительный стресс (ОС). В настоящее время многие авторы считают ОС "универсальной основой" развития всех осложнений при СД [1, 2]. Более того, ОС, индуцированный гипергликемией, рассматривается в качестве главного механизма повреждения β -клеток, ускоряющего прогрессирование СД [3, 4]. ОС формируется в результате нарушения баланса между прооксидантами и компонентами системы антиоксидантной защиты (АОЗ). Недостаточная эффективность АОЗ ведет к гиперпродукции активных форм кислорода (АФК), активации перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислительной модификации белков.

Антиоксидантный потенциал (АОП) клеток человека в основном обеспечивается ферментативными системами АОЗ. Ключевыми ферментами АОЗ являются супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), глутатион-пероксидаза (ГП) и глутатион-редуктаза (ГР). В плазме крови, наряду с ферментными системами, значительный вклад в АОП вносят экзогенные низкомолекулярные антиоксиданты (АО), поступающие в организм с пищей, пищевыми добавками и лекарственными средствами [5]. Гипергликемия вызывает гликозилирование и инактивацию антиоксидантных ферментов, а сниженная активность СОД и уменьшение доступности глутатиона являются индикаторами наличия хронического ОС [6]. К настоящему времени накоплено достаточно экспериментальных и клинических данных, подтверждающих эффективность применения АО в качестве вспомогательных средств при лечении СД. В последние десятилетия все большее внимание диабетологов привлекают природные АО, в

первую очередь растительного происхождения [7, 8]. В настоящее время описано более 800 растений с антидиабетической активностью [9], однако механизмы действия и научное подтверждение биологическим эффектам найдены лишь для очень немногих из них.

Для исследования взяты виды *Agrimonia asiatica* Juz. и *Geranium collinum* Steph., произрастающие на территории Казахстана, которые используются в народной медицине стран Центральной Азии и Казахстана при лечении различных хронических заболеваний, в том числе при нарушениях обмена веществ и СД. *A. asiatica* и *G. collinum* характеризуются высоким содержанием фенольных соединений (ФС) различных классов (дубильные вещества, флавоноиды, фенолоскислоты) с высокой биологической активностью [10, 11]. В ранее проведенных нами исследованиях для экстрактов *A. asiatica* и *G. collinum* установлена высокая АО активность *in vitro* [12]. В литературных источниках приводятся данные о том, что виды *Agrimonia* обладают высокой АО и гипогликемической активностью, влияют на метаболизм глюкозы и секрецию инсулина [13 – 15]. Для различных видов *Geranium* установлена антиоксидантная, антидиабетическая, антиастматическая, антиаллергическая, противовирусная и другие виды активности [16 – 18].

Целью данной работы стало изучение влияния 70 % этанольных экстрактов надземной части *A. asiatica* и корней *G. collinum* на ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов СОД, КАТ, ГР и ГП крови крыс с аллоксан-индуцированным диабетом.

Экспериментальная химическая часть

Водно-этанольные 70 % экстракты получали из наземной части *A. asiatica* (Д1) и корней *G. collinum* (Д2) двукратным настаиванием в течение 24 ч при комнатной температуре (24 – 27 °С) при соотношении сырья — растворитель 1/20 (масса/объем) после предварительного извлечения хлорофилла и липофильных компонентов хлороформом (экстракция в тех же условиях, что и 70 % этанолом). Количество экстрагированных веществ составило для Д1 – 274 мг/г сухой массы и Д2 – 286 мг/г сухой массы. Экстракты концентрировали в вакуумном испарителе при 40 °С до полного удаления спирта. Водную часть экстрактов лиофильно сушили и хранили при 2 – 4 °С до использования в эксперименте. Содержание влаги, тяжелых металлов в сухих экстрактах определяли согласно требованиям нормативной документации [19]. Общее содержание растворимых ФС определяли по методу Фолина — Чокальтеу в модификации Синглетона и Росси [20]. Результаты определения выражали в мг эквивалентов галловой кислоты.

Экспериментальная биологическая часть

Эксперименты проводили на 95 белых крысах-самцах линии Wistar с массой тела (260 ± 20) г. Животные содержались в условиях вивария отдела экспериментальных моделей Республиканского государственного предприятия “Казахский НИИ онкологии и радиологии” МЗ РК с естественным световым режимом на стандартном рационе кормления в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и научных целях (Страсбург, 1986). Доклинические исследования на животных проводились согласно “Правилам проведения доклинических исследований, медико-биологических экспериментов и клинических испытаний в Республике Казахстан”, утвержденных приказом министра здравоохранения РК от 25 июля 2007 г. № 442 в соответствии с Госстандартом РК. Острая токсичность экстрактов Д1 (LD₅₀ = (480 ± 11,5) мг/кг массы тела) и Д2 (LD₅₀ = 470 ± 8,6) мг/кг) установлена в ранее проведенных исследованиях на кафедре патофизиологии Казахского национального медицинского университета им. С. Д. Асфендиярова на белых мышках-самцах массой 22 – 30 г однократным внутрибрюшинным введением экстрактов согласно методическим рекомендациям, утвержденным Фармакологическим комитетом РК [21]. На основании данных токсикологических исследований для первичного изучения антиоксидантной активности растительных экстрактов Д1 и Д2 *in vivo* на модели аллоксан-индуцированного диабета использована 1 доза экстрактов, не обладающая токсическим эффектом (50 мг/кг).

Экспериментальный СД индуцировали двукратным подкожным введением 5 % раствора моногидрата аллоксана из расчета 80 мг/кг (первоначальная инъекция) и 90 мг/кг массы тела животного (повторная инъекция).

За 24 ч до начала эксперимента животных лишали пищи. Через 72 ч у крыс определяли содержание глюкозы в образцах крови, взятых из хвостовой вены. Животных с содержанием глюкозы в крови выше 6 ммоль/л считали диабетическими. Через 24 ч животным повторно вводили аллоксан (90 мг/кг). Через 72 ч у крыс вновь определяли содержание глюкозы. Животных с содержанием глюкозы в крови выше 6,0, но не более 14,0 ммоль/л считали диабетическими (легкая и средняя степени СД) и отбирали для изучения корректирующего влияния растительных экстрактов. После повторной инъекции аллоксана животных равномерно распределяли на 4 группы по 15 особей в каждой: 1-я группа — контрольные (интактные) животные (К⁻); 2-я группа — контрольная диабетическая группа (К⁺); 3-я группа — диабетические особи, получавшие Д1; 4-я группа — диабетические животные, получавшие Д2. Ежедневное пероральное введение экстрактов (50 мг/кг) начинали через 3 сут после повторной инъекции аллоксана на фоне стойкой гипергликемии и продолжали в течение 18 дней. Забой животных по 5 особей из каждой группы и забор крови внутрисердечно для анализа активности ПОЛ и антиоксидантных ферментов СОД, КАТ, ГР, ГП проводили через 7, 14, 21 день после повторной инъекции аллоксана. Для анестезии при заборе крови использовали хлороформ.

Содержание глюкозы в образцах крови, взятых из хвостовой вены, определяли на глюкометре (One Touch Select, China) с использованием тест-полосок (Life Scan, Inc. Milpitas, UK). Для забора крови внутрисердечно использовали вакутейнеры, содержащие гепарин. Кровь центрифугировали 15 мин при 4 °С и 3000 об/мин (Sigma 2K15C, Germany) и отделяли плазму от эритроцитов. Гипотонический лизис эритроцитов осуществляли добавлением к пробе 4-кратного объема холодной дистиллированной воды. Взвесь эритроцитов инкубировали 15 мин при температуре –18 °С, гемолизат центрифугировали 15 мин при 14000 об/мин и 4 °С с целью осаждения теней эритроцитов. Для анализа использовали супернатант. Содержание гемоглобина определяли с использованием гемихромного метода [22]. ПОЛ клеточных мембран эритроцитов оценивали по накоплению продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой спектрофотометрически при длине волны 532 нм (Ultrospec 1100pro, USA) [23]. Активность КАТ оценивали по скорости разложения перекиси водорода, образующей с молибдатом аммония окрашенный комплекс, по методу Королук [24] в модификации Васильева с соавторами [25]. Для устранения мешающего определению СОД влияния гемоглобина образцы плазмы и гемолизата эритроцитов дополнительно очищали, как описано в работе [26]. Активность СОД определяли по степени блокирования образования нитроформазана как описано [27]. Активность ГР определяли по убыли НАДФН, при восстановлении окисленного глутатиона в среде инкубации при 340 нм [28]. При оценке активности ГР эритроцитов вводили поправку на уменьше-

ние содержания НАДФН, зависящую от присутствия НАДФН-оксидазы, как было предложено в [29]. Активность ГП определяли по накоплению окисленного глутатиона при 260 нм [28].

Данные получены не менее чем в 3 аналитических повторностях и в таблицах представлены в виде средней арифметической (M) и ее стандартной ошибки ($\pm m$). Достоверность различий оценивали по t -критерию Стьюдента, различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Стандартизацию сухих экстрактов надземной части *A. asiatica* (Д1) и корней *G. collinum* (Д2) проводили согласно требованиям [19]. Сухие экстракты после измельчения представляли собой сыпучие порошки светло-коричневого (Д1) и бежевого (Д2) цвета. По содержанию влаги (Д1 = $2,8 \pm 0,2$ %; Д2 = $2,2 \pm 0,2$ %) и тяжелых металлов (менее 0,01 %) сухие экстракты удовлетворяли требованиям нормативной документации [19]. *A. asiatica* и *G. collinum* характеризуются высоким содержанием различных классов ФС, являющихся действующим началом их биологической активности, в том числе антиоксидантной [15, 18]. Общее содержание растворимых ФС, в пересчете на галловую кислоту [17, 30], для Д1 и Д2 составило соответственно $25,8 \pm 1,3$ % и $37,9 \pm 1,8$ %. Использование галловой кислоты в качестве эквивалента обусловлено составом ФС этих растений и описано во многих работах [17, 30]. В предыдущих исследованиях для водно-этанольных экстрактов *G. collinum* и *A. asiatica* установлена прямо пропорциональная зависимость их АО активности *in vitro* от общего содержания ФС. 70 % этанольные экстракты *A. asiatica* и *G. collinum* характеризовались максимальным содержанием

ФС и обладали максимальной АО активностью по сравнению с водно-этанольными экстрактами другого состава [12]. Исходя из вышеизложенного, стандартизацию сухих экстрактов *A. asiatica* и *G. collinum* рационально проводить по показателям общего содержания ФС.

Начальная концентрация глюкозы в группе интактных животных составляла $4,6 - 5,7$ ммоль/л и сохранялась на этом уровне в течение всего эксперимента. Введение аллоксана вызывало увеличение концентрации глюкозы в диабетической группе (K^+) через 7 дней до $(9,5 \pm 1,78)$ ммоль/л с последующим незначительным снижением уровня глюкозы через 14 дней $(9,0 \pm 1,14)$ ммоль/л и ростом этого показателя через 3 недели до $(10,5 \pm 2,3)$ ммоль/л. Подобную динамику изменения уровня глюкозы наблюдали в обеих опытных группах животных на фоне применения экстрактов Д1 и Д2, но с меньшим уровнем гликемии через 14 и 21 день (статистически недостоверные отличия).

Важной составляющей развития диабетических осложнений является ОС. Выраженность ОС оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА), который образуется в организме при дегградации полиненасыщенных жирных кислот клеточных мембран АФК и служит маркером ОС. Для оценки состояния АОЗ определяли активность АО ферментов СОД, КАТ, ГП и ГР. Данные о влиянии экстрактов Д1 и Д2 на активность ПОЛ и АО ферментов плазмы и эритроцитов крови крыс с экспериментальным СД представлены в табл. 1 и 2. Анализ состояния редокс-системы эритроцитов является важной составляющей исследований, так как состояние обмена веществ в мембранах этих клеток отражает метаболизм мембран и других органов. Усиление активности ПОЛ играет существенную роль в повреждении эритроцитов и эндотелия сосудов

Таблица 1

Влияние 70 % этанольных экстрактов *A. asiatica* (Д1) и *G. collinum* (Д2) на ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов эритроцитов крыс с аллоксановым диабетом ($M \pm m$)

Время после 2-й инъекции аллоксана	группа	Гемолизат эритроцитов				
		МДА, нмоль/г _{НБ}	СОД, У/мг _{НБ}	КАТ, мкмоль H ₂ O ₂ /с · г _{НБ}	ГР, нмоль НАДФН/мин · г _{НБ}	ГП, мкмоль GSSG/мин · г _{НБ}
7 дней	$K^{(-)}$	$17,48 \pm 1,97$	$4,38 \pm 0,46$	$1,989 \pm 0,26$	$3,104 \pm 0,17$	$1,971 \pm 0,13$
	$K^{(+)}$	$28,68 \pm 2,63^*$	$3,01 \pm 0,81$	$0,656 \pm 0,09^*$	$2,970 \pm 0,22$	$3,833 \pm 0,32^*$
	Д1	$28,54 \pm 1,96$	$3,43 \pm 0,04$	$0,842 \pm 0,02$	$2,859 \pm 0,51$	$3,127 \pm 0,18^{**}$
	Д2	$27,95 \pm 1,34$	$5,52 \pm 0,34^{**}$	$1,762 \pm 0,03^{**}$	$4,447 \pm 0,05^*$	$3,041 \pm 1,11$
14 дней	$K^{(-)}$	$17,64 \pm 1,23$	$4,47 \pm 0,24$	$2,051 \pm 0,05$	$2,847 \pm 0,06$	$1,604 \pm 0,16$
	$K^{(+)}$	$27,17 \pm 0,35^*$	$3,26 \pm 0,45^*$	$0,708 \pm 0,11^*$	$3,325 \pm 0,42$	$2,339 \pm 0,61$
	Д1	$16,87 \pm 0,98^{**}$	$3,97 \pm 0,15$	$1,143 \pm 0,03^{**}$	$2,548 \pm 0,68$	$0,936 \pm 0,16^{**}$
	Д2	$18,14 \pm 1,29^{**}$	$4,88 \pm 0,10^{**}$	$1,336 \pm 0,06^{**}$	$5,203 \pm 0,74^*$	$1,482 \pm 0,14^{**}$
21 день	$K^{(-)}$	$18,21 \pm 1,67$	$3,81 \pm 0,32$	$1,913 \pm 0,15$	$2,874 \pm 0,03$	$1,538 \pm 0,46$
	$K^{(+)}$	$25,74 \pm 0,55^*$	$3,03 \pm 0,45$	$0,593 \pm 0,02^*$	$2,199 \pm 0,06^*$	$2,882 \pm 0,26^*$
	Д1	$18,72 \pm 0,26^{**}$	$3,71 \pm 0,13$	$1,485 \pm 0,14^{**}$	$2,602 \pm 0,34$	$2,489 \pm 0,57$
	Д2	$17,28 \pm 1,63^{**}$	$4,67 \pm 0,29^{**}$	$1,126 \pm 0,02^{**}$	$3,041 \pm 0,32$	$2,343 \pm 0,39$

Здесь и в табл. 2: количество животных в каждой группе $n = 5$; $K^{(-)}$ — контрольные (интактные) животные; $K^{(+)}$ — животные с экспериментальным СД; Д1 — диабетические особи, получавшие экстракт Д1; Д2 — диабетические особи, получавшие экстракт Д2; * $p < 0,05$, достоверно по сравнению с интактным контролем; ** $p < 0,05$, достоверно по сравнению с диабетическим контролем.

и в формировании диабетических ангиопатий. Результаты проведенных исследований показали достоверное увеличение уровня ПОЛ (на 51 – 80 %) в мембранах эритроцитов диабетических крыс по сравнению с контрольными животными. Максимальное увеличение уровня ПОЛ у диабетических животных регистрировали на начальной стадии экспериментального диабета (через 7 дней). Достоверный эффект снижения уровня ПОЛ на фоне применения Д1 и Д2 наблюдали, начиная с 10 дней их использования. Эффект влияния обоих экстрактов на ПОЛ был приблизительно одинаковым и достоверно не отличался. Д1 и Д2 снижали ПОЛ мембран эритроцитов крови практически до уровня показателей интактных животных. Установленный для Д1 эффект отличается от результатов, полученных в работе [31]. Проведенные этими авторами исследования 80 % этанольного экстракта *Agrimonia pilosa* (50 и 100 мг/кг) не выявили достоверного эффекта снижения уровня ПОЛ в крови крыс со стрептозотацин-индуцированным диабетом. Полученные результаты могут объясняться как различиями в химическом составе экстрактов, так и разными условиями проведения экспериментов. Эффект снижения ПОЛ в крови и тканях животных с химически индуцированным СД при использовании природных субстанций неоднократно описан [32, 33]. Различия, наблюдаемые в уровнях подавления ПОЛ и динамике проявленных эффектов, зависят как от АО активности различных классов и групп исследуемых субстратов, так и условий проведения экспериментов. Так, этанольный экстракт листьев оливы (*Olea europaea*) через 3 дня перорального использования снижал уровень ПОЛ плазмы крови диабетических крыс на 30 – 35 % [34]. Эффект корректирующего влияния экстрактов корня *Indigofera stachyodes* Lindl. на течение СД мышей был более значительным. Этилацетатный и бутанольный экстракты снижали уровень ПОЛ соответственно на 50 – 64 и 67 – 103 %. Испытание 3 различных концентраций

обоих экстрактов не выявило прямо пропорциональной зависимости эффекта снижения ПОЛ от дозы испытанных субстратов [35].

Основная роль в защите биомолекул от действия АФК принадлежит эндогенным АО, в том числе ферментативным системам крови. Одним из ключевых ферментов АО защиты является СОД, выполняя функцию утилизации супероксидного радикала O_2^- . СОД катализирует дисмутацию анионов супероксида в молекулярный кислород и перекись водорода, предотвращая ПОЛ клеточных мембран и других органических молекул. Уровень активности СОД плазмы, наблюдаемый у здоровых особей, снижался при воспроизведении диабета аллоксаном в 2 – 3 раза и сохранялся таким у диабетических животных на протяжении всего эксперимента (табл. 1). Установлено корректирующее влияние субстратов Д1 и Д2 на активность СОД крови диабетических животных. Индукция активности плазменной СОД экстрактом Д1 статистически достоверно наблюдалась после 10 дней его применения в 2,6 и 1,5 раз через 14 и 21 день после 2-й инъекции аллоксана (табл. 2). Индукция активности СОД плазмы экстрактом Д2 была статистически недостоверной. При развитии экспериментального диабета наблюдали также снижение уровня активности эритроцитарной СОД в 1,3 – 1,4 раза по сравнению с показателями активности фермента интактных животных. Статистически значимое индуцирующее влияние Д2 на активность эритроцитарной фракции СОД регистрировали после 4 дней его использования, в 1,5 – 1,8 раз ($p < 0,05$). Д1 не оказывал статистически достоверного влияния на активность СОД эритроцитов.

КАТ является основным ферментом разложения H_2O_2 . Установлено статистически достоверное снижение уровня активности КАТ в крови диабетических крыс по сравнению с контрольной группой: плазменного пула — в 2,1 – 1,7 раз, эритроцитарного — в 3,2 – 2,9 раза, сохраняющееся на протяжении всего

Таблица 2
Влияние 70 % этанольных экстрактов *A. asiatica* (Д1) и *G. collinum* (Д2) на активность антиоксидантных ферментов плазмы крови крыс с экспериментальным СД ($M \pm m$)

Время после 2-й инъекции аллоксана	группа	Плазма			
		СОД, У/мл плазмы	КАТ, мкмоль $H_2O_2/c \cdot л$ плазмы	ГР, нмоль НАДФН/с $\cdot л$ плазмы	ГП, мкмоль GSSG/мин $\cdot л$ плазмы
7 дней	K ⁽⁻⁾	236,24 ± 6,40	1321,12 ± 33,96	0,476 ± 0,005	17,58 ± 3,22
	K ⁽⁺⁾	95,94 ± 2,32*	636,53 ± 8,49*	0,464 ± 0,062	25,23 ± 1,83*
	Д1	86,88 ± 23,09*	747 ± 23,81*	0,389 ± 0,014*	27,89 ± 2,35*
	Д2	70,06 ± 17,04*	557 ± 18,74*	0,449 ± 0,009*	23,76 ± 2,32
14 дней	K ⁽⁻⁾	259,63 ± 31,09	1128,94 ± 169,81	0,486 ± 0,013	13,33 ± 0,28
	K ⁽⁺⁾	72,62 ± 15,11*	660,56 ± 8,49*	0,532 ± 0,09	15,91 ± 1,07
	Д1	191,12 ± 35,72**	712 ± 77,46	0,452 ± 0,008*	16,83 ± 1,39
	Д2	100,36 ± 12,21	496 ± 96,35	0,407 ± 0,012*	20,68 ± 1,84*
21 день	K ⁽⁻⁾	235,79 ± 8,21	1228 ± 33,96	0,515 ± 0,014	18,27 ± 0,70
	K ⁽⁺⁾	115,03 ± 27,89*	576,48 ± 22,83*	0,499 ± 0,007	16,36 ± 1,79
	Д1	177,62 ± 11,41**	512,4 ± 73,61*	0,517 ± 0,11	14,82 ± 1,87
	Д2	142,27 ± 3,82	665 ± 29,52*	0,484 ± 0,004	18,76 ± 2,15

эксперимента. Д1 и Д2 не оказывали статистически значимого корректирующего влияния на активность плазменной КАТ диабетических животных, но достоверно индуцировали эритроцитарную КАТ (в 1,6 – 2,6 раза). Экстракты характеризовались сходной эффективностью, но имели различную динамику влияния. В литературе представлено достаточно данных об индуцирующем влиянии растительных экстрактов на ключевые ферментные системы крови и тканей животных при СД, в том числе химически индуцированном [34 – 36]. Новизна проведенного исследования связана с изучением биологической активности местных видов растений для разработки на их основе отечественных лекарственных средств.

ГР — фермент, утилизирующий пероксиды при использовании НАДФН и восстанавливающий окисленный глутатион. Эта реакция предупреждает прогрессирование ПОЛ и окислительный распад нуклеиновых кислот и белков. Уровни активности ГР плазмы и гемолизата эритроцитов контрольных и диабетических животных на ранней стадии экспериментального диабета достоверно не отличались. Статистически значимое снижение активности ГР эритроцитов регистрировали у диабетических животных через 21 день (на 27 – 30 %). Д1 не оказывал статистически достоверного влияния на активность эритроцитарной фракции фермента, и незначительно, но снижал активность плазменной ГР (на 7 – 9 %). Д2, напротив, существенно повышал активность эритроцитарной ГР. Через 4 дня использования Д2 активность ГР увеличилась на 36 – 45 % по сравнению с контролем, через 14 дней — в 1,8 раз со снижением эффекта индукции через 21 день. Д2, подобно Д1, незначительно снижал активность плазменной ГР на 18 – 20 % через 14 дней (табл. 2).

Уровень активности ГП как плазмы, так и эритроцитов, у контрольных и диабетических крыс наиболее отличался на ранней стадии развития экспериментального диабета. Через 7 дней после индукции СД у опытных животных этот показатель был выше показателей контрольных животных в плазме на 39 – 47 %, и статистически достоверно не отличался от контроля на более поздних стадиях. Активность ГП эритроцитов диабетических особей через 7 дней превышала уровень активности контрольных показателей в 1,9 раз, на более поздней стадии, через 14 и 21 день, соответственно — в 1,4 и 1,9 раз. Д1 и Д2 не оказывали достоверного корректирующего влияния на активность плазменной ГП и достоверно снижали индуцированное аллоксаном повышение активности ГП эритроцитов: Д1 — через 7 и 14 дней развития СД, соответственно на 18 и 60 %; Д2 — через 14 дней на 37 % (табл. 1).

Таким образом, на модели аллоксан-индуцированного диабета крыс показано корректирующее влияние 70 % этанольных экстрактов *A. asiatica* (Д1) и *G. collinum* (Д2) на течение ОС. Для обоих субстратов Д1 и Д2 установлен эффект снижения ПОЛ в мембранах эритроцитов (на 26 – 45 %). Для Д1 установлен эф-

фект индукции активности СОД плазмы (в 1,5 – 2,6 раза) и активности КАТ эритроцитов (в 1,6 – 2,3 раза). Д2 индуцировал активность СОД (в 1,5 – 1,8 раз), КАТ (в 2,7 – 1,9 раз) и ГР (в 1,4 – 1,9 раз) эритроцитов. Оба субстрата Д1 и Д2 в условиях эксперимента вызывали подавление активности ГР плазмы крови (на 7 – 20 %) и снижали вызванное аллоксаном повышение активности ГП эритроцитов (на 20 – 60 %). Полученные данные демонстрируют возможный механизм антидиабетического действия сухих экстрактов *A. asiatica* и *G. collinum*, связанный с коррекцией течения ОС в крови, и могут быть использованы для дополнительной характеристики биологической активности этих растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. D. Niedowicz and D. Daleke, *Cell Biochem. Biophys.*, **43**, 289 – 330 (2005).
2. O. O. Erejuwa, in: *Oxidative Stress and Diseases*, V. I. Lushchak and D. V. Gospodaryov (eds.), In Tech, Rijeka, Croatia (2012), pp. 217 – 246.
3. M. Prentki and C. J. Nolan, *J. Clin. Inv.*, **116**(7), 1802 – 1812 (2006).
4. V. Poitout and R. P. Robertson, *Endocrinology*, **143**(2), 339 – 342 (2002).
5. A. C. Maritim, R. A. Sanders and J. B. Watkins, *J. Biochem. Molec. Toxicol.*, **17**, 24 – 38 (2003).
6. A. V. Maksimenko, A. V. Vavaev and E. G. Tischenko, *The Open Conference Proceedings J.*, **1**, 219 – 223 (2010).
7. I. T. Nizamutdinova, Y. C. Jin, J. L. Chung, et al., *Mol. Nutr. Food Res.*, **53**(11), 1419 – 1429 (2009).
8. S. Mohammad, A. Naha, R. N. Bamezai, et al., *Life Sci.*, **78**(8), 820 – 824 (2006).
9. S. I. Rizvi and N. Mishra, *J. Diabetes Res.*, 1 – 11 (2013).
10. L. Chen and Y. H. Kang, *Korean J. Plant Res.*, **27**(6), 642 – 649 (2014).
11. P. Li, L. Zhao, Y. Du, et al., *Advance J. Food Sci. Technol.*, **5**(3), 255 – 257 (2013).
12. О. А. Сапко, А. Ш. Утарбаева, О. В. Чебоненко и др., *Материалы IX Международного симпозиума “Фенольные соединения: Фундаментальные и прикладные аспекты”*, Москва (2015), сс. 647 – 652.
13. X. Liu, L. Zhu, J. Tan, et al., *BMC Compl. Alt. Med.*, **14**, 12 – 16 (2014).
14. Z. X. Jin and B. Q. Wang, *J. Med. Plants Res.*, **5**(25), 6005 – 6010 (2011).
15. R. Kubinova, D. Jankovska and V. Bauerova, *Acta Fytotech. Zootech.*, **2**, 238 – 241 (2012).
16. M. B. Avila, J. A. G. de Lucio, N. V. Mendoza, et al., in: *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases*, J. A. Morales-Gonzalez (ed.), In Tech, Mexico (2013), pp. 114 – 129.
17. G. Paun, E. Neagu, S. C. Litescu, et al., *J. Serb. Chem. Soc.*, **77**(9), 1191 – 1203 (2012).
18. E. Neagu, G. Pauna, V. Moroeanua, et al., *Rev. Roum. Chim.*, **55**(6), 321 – 325 (2010).
19. *Государственная фармакопея РФ*, 13-е изд., М., Т. 1, 182, 708, 712 (2015).
20. V. L. Singleton and J. A. Rossi, *Am. J. Enol. Vitic.*, **16**, 144 – 158 (1965).
21. А. Н. Миронов, Н. Д. Бунятян, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Ч. 1, Гриф и К, Москва (2012), с. 944.
22. А. А. Ахрем, Г. М. Андреюк, С. И. Киселева, *Лаб. дело*, № 5, 13 – 15 (1989).
23. Е. А. Строев, В. Г. Макарова, *Практикум по биологической химии*, Высшая школа, Москва (1986).

24. М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др., *Лаб. дело*, № 1, 16 – 19 (1988).
25. А. с. России 4436831, *Откр. Изобрет.*, № 3, 149 (1991).
26. Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова, *Лаб. дело*, № 10, 30 – 33 (1983).
27. С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер. *Лаб. дело*, № 10, 9 – 13 (1991).
28. И. А. Переслегина, *Лаб. дело*, № 11, 20 – 22 (1989).
29. P. L. Wendell, *Biochim. Biophys. Acta*, **159**(1), 179 – 181 (1968).
30. Z. X. Jin, B. Q. Wang and Z. J. Chen, *J. Med. Plants Res.*, **4**(21), 2229 – 2234 (2010).
31. Ch. H. Jung, S. Zhou, G. X. Ding, et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**(10), 25 – 56 (2006).
32. W. Kang, Y. Song and X. Gu, *J. Med. Plants Res.*, **6**(14), 2850 – 2856 (2012).
33. A. R. Srividya, S. P. Dhanabal, M. N. Satish Kumar, et al., *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.*, **3**(1), 6 – 12 (2010).
34. I. I. A. Ghanema and K. M. Sadek, *World Academy of Science, Engineering and Technology*, **6**(4), 134 – 140 (2012).
35. Y. Li, Ch. Li, Q. Xu, et al., *J. Med. Plants Res.*, **5**(14), 3321 – 3328 (2011).
36. H. F. Al-Azzawie, M.-S. S. Alhamdani, *Life Sci.*, **78**, 1371 – 1377 (2006).

Поступила 07.04.15

EFFECT OF *AGRIMONIA ASIATICA* AND *GERANIUM COLLINUM* EXTRACTS ON LIPID PEROXIDATION AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN BLOOD OF RATS WITH ALLOXAN-INDUCED DIABETES

O. A. Sapko, A. K. Tursunova, A. O. Abaildaev, O. V. Chebonenko, A. V. Krasnoshtanov, and A. Sh. Utarbaeva*

M. A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Almaty, 050012 Kazakhstan

* e-mail: a.utar@mail.ru

The influence of 70% ethanol extracts from the aerial parts of *Agrimonia asiatica* Juz. (D1) and roots of *Geranium collinum* Steph. (D2) on lipid peroxidation (LPO) and activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), and glutathione reductase (GR) of blood plasma and erythrocytes was studied in rats with alloxan-induced diabetes. For both D1 and D2, a reliable effect of LPO decrease (by 51 – 80%) in erythrocyte membranes was established. D1 led to increase in the activity of plasma SOD (1.5 – 2.6 fold) and erythrocyte CAT (1.6 – 2.3 fold). D2 substrate induced the activity of COD (1.5 – 1.8 fold), CAT (1.9 – 2.7), and erythrocyte GR (1.4 – 1.9 fold). Both D1 and D2 substrates exhibited statistically reliable effects of suppressing the activity of plasma GR (by 7 – 18%) and reducing alloxan-induced increase in the activity of erythrocyte GPX (by 20 – 60%).

Keywords: *Agrimonia asiatica*; *Geranium collinum*; 70% ethanol extracts; alloxan induced diabetes; lipid peroxidation; antioxidant enzymes.