

## ЛИНИМЕНТ ПЯТИЛИСТНИКА КУСТАРНИКОВОГО ПРИ РАНАХ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Хитрихеев В.Е.<sup>1</sup>, Гармаев Б-Ц.Н.<sup>2</sup>, Бальхаев М.И.<sup>1</sup>, Николаева И.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» Министерства образования и науки РФ, Улан-Удэ;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН», Улан-Удэ, e-mail: irina\_dadueva@mail.ru

Целью исследования было выявить влияние линимента Пятилистика кустарникового, изготовленного на аппарате NanoDeBee30, на перекисное окисление липидов при раневом процессе у крыс с экспериментальным сахарным диабетом. Эксперименты проводили на белых крысах-самцах линии Wistar; экспериментальный сахарный диабет вызывали однократным введением аллоксана внутривенно в дозе 100 мг/кг, повреждение кожи воспроизводилось путем нанесения плоскостных ран размерами 2,0 x 2,0 см. На раны животных первой опытной группы на протяжении 14 суток накладывались 100 мг 5 % линимента Пятилистика кустарникового, изготовленного на аппарате NanoDeBee30. Во второй опытной группе использовали препарат сравнения – линимент бальзамический, в контрольной группе обработку ран производили глицерин-ланолиновой мазью. На 7, 14 и 21 сутки эксперимента в сыворотке крови определяли концентрацию ТБК-активных продуктов для оценки интенсивности процессов перекисного окисления липидов и содержание восстановленного глутатиона и активности каталазы для определения антиоксидантного статуса. Результаты опытов свидетельствуют об эффективном положительном воздействии линимента Пятилистика кустарникового на заживление ран на фоне экспериментального сахарного диабета у крыс.

Ключевые слова: линимент Пятилистика кустарникового, перекисное окисление липидов, раневое повреждение кожи, сахарный диабет.

## LINIMENT *PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA* L. IN INJURIES WITH A BACKGROUND OF DIABETES MELLITUS IN RATS

Khitrikheev V. E.<sup>1</sup>, Garmaev B-Ts. N.<sup>2</sup>, Balkhaev M. I.<sup>1</sup>, Nikolaeva I. G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Buryat State University, Ulan-Ude;

<sup>2</sup>Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, e-mail: irina\_dadueva@mail.ru

The aim of the work was to evaluate the influence of the liniment from *Pentaphylloides fruticosa* L. on lipid peroxidation in rats with experimental diabetes mellitus accompanied by wound process. The liniment was developed with the use of NanoDeBee30 device. Experiments were carried out on white male Wistar rats. Experimental diabetes mellitus was simulated by a single intraperitoneal introduction of alloxan in a dose of 100 mg/kg. The skin injury was simulated by inflicting planar wounds 2.0 x 2.0 cm in size. 100 mg of the 5%-liniment from *Pentaphylloides fruticosa* was put on the wounds of the first experimental group once a day for 14 days. The second experimental group was treated by the preparation of comparison – balsamic liniment. The wounds of the control group were treated with glycerin-lanolin ointment. On the 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> day the concentration of TBA-active products in the blood serum was determined to estimate the intensity of lipid peroxidation processes; the contents of reduced glutathione and catalase activity were determined to evaluate the antioxidant status. The results of the experiments verify the marked curative effect of the liniment from *Pentaphylloides fruticosa* L. on the healing of the wounds on the background of experimental diabetes mellitus in rats

Keywords: *Pentaphylloides fruticosa* L. liniment, lipid peroxidation, skin injury, diabetes mellitus.

Сахарный диабет – распространенное заболевание [3]. Многие аспекты фармакотерапии этого сложного в патогенетическом отношении заболевания находятся на стадии разрешения. Ведущий синдром при сахарном диабете – хроническая гипергликемия, приводящая к нарушению обменов веществ, развитию сосудистых осложнений на фоне окислительного стресса [3,9]. Нарушения обмена глюкозы в условиях дефицита инсулина и инсулинорезистентности тканей, а также ишемия и гипоксия, характерные для сахарного

диабета, являются факторами, способствующими повышенному образованию свободных радикалов и их метаболитов [1]. Антиоксидантная система организма, включающая множество компонентов, позволяет достаточно успешно противостоять бесконтрольному увеличению свободных радикалов. Как показывает клинический опыт и результаты исследований, применение антиоксидантов позволяет нормализовать процессы перекисного окисления липидов и блокировать цитотоксическое действие последних. Существует четко выраженная взаимосвязь между показателями перекисного окисления липидов и системой гомеостаза, нарушения в которых способствуют развитию ангиопатий [1]. Расстройства микроциркуляции на фоне микро- и макроангиопатии, снижение местного иммунитета у больных с сахарным диабетом приводят к развитию тяжелых осложнений, таких как диабетическая стопа, нарушения репаративных процессов при повреждениях кожного покрова и слизистых [3]. Поэтому фармакотерапия раневого процесса у больных сахарным диабетом требует не только коррекции уровня сахара в крови, но и активного местного воздействия на раневой дефект с целью улучшения условий для заживления раны. Ранее проведенные исследования экстракта Пятилистика кустарникового позволили выявить значительную насыщенность данного растения биологически активными веществами, и прежде всего, флавоноидами, дубильными веществами, полисахаридами, витаминами, углеводами, аминокислотами, сапонинами тритерпеноидной группы и другими соединениями [5]. Наличие в составе экстракта указанных биологически активных веществ, являющихся природными антиоксидантами, а также сведения народной медицины об успешном применении побегов Пятилистика кустарникового при ранах [5] послужили основанием для разработки мягкой готовой формы из Пятилистика кустарникового для местного применения при лечении ран.

**Цель исследования:** оценить влияние линимента из экстракта побегов Пятилистика кустарникового, изготовленного на аппарате NanoDeBee30, на перекисное окисление липидов (ПОЛ) при раневом процессе у крыс с экспериментальным сахарным диабетом.

**Методы исследования:** эксперименты проводили на белых крысах-самцах линии Wistar с исходной массой 200-250 г., в соответствии с требованиями приказа №267 МЗ РФ от 19.06.2003 г. Протокол исследования одобрен комиссией по этике при институте общей и экспериментальной биологии СО РАН (заключение за №17 от 09.07.15 г.). Животные находились в стандартных условиях содержания и кормления в виварии (Приказ МЗ №1179 от 10.10.1983 г.). Опыты на животных осуществлялись в соответствии с «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей». Экспериментальный сахарный диабет вызывали однократным введением аллоксана, внутривенно, в дозе 100 мг/кг [5], а через 2 суток

воспроизводилось повреждение кожи путем нанесения плоскостных ран размерами 2,0 x 2,0 см. На раны животных первой опытной группы 1 раз в сутки на протяжении 14 суток накладывались 100 мг 5 % линимента из побегов Пятилистника кустарникового, изготовленного на аппарате NanoDeBee 30. Во второй опытной группе использовали в указанной дозе и схеме препарат сравнения – линимент бальзамический (по Вишневскому), а в контрольной группе обработку ран производили глицерин-ланолиновой (2:3) мазью. На 7, 14 и 21 сутки эксперимента у крыс определяли концентрацию ТБК-активных продуктов в сыворотке крови [7,4] для оценки интенсивности процессов перекисного окисления липидов, а содержание в сыворотке крови восстановленного глутатиона и активности каталазы – для определения состояния антиоксидантного статуса [2]. В грануляционно-фибринозной ткани определяли содержание нуклеиновых кислот по Шмидту и Тангаузеру в модификации М.Р. Трудолюбовой [5]. Значимость различий по указанным параметрам между опытными и контрольной группами животных оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни, различия считали значимыми при  $P \leq 0,05$  [6].

### Результаты и их обсуждение

Результаты исследований показали, что ежедневное нанесение на плоскостную рану линимента, изготовленного на аппарате NanoDeBee30, у крыс с сахарным диабетом позволяет снизить интенсивность ПОЛ и повысить показатели антиоксидантного статуса.

Таблица 1

Влияние линимента из побегов Пятилистника кустарникового и линимента бальзамического на состояние свободнорадикальных процессов при раневом повреждении кожи у крыс с сахарным диабетом

Показатели, ед. измерения	Группы животных		
	Глицерин- валелиновая основа мази-(контроль) (n=8)	Линимент Пятилистника кустарникового, произведенный на аппарате NanoDeBee30 (n=10)	Линимент Пятилистника кустарникового, изготовленного по аптечной технологии (n=8)
<b>7-е сутки эксперимента</b>			
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	15,11±0,79	9,08±0,28*	9,50±0,55*
Каталаза, кат/л	7,93±0,10	8,45±0,17*	8,87±0,10*
GSH, ммоль/л	1,34±0,08	1,96±0,02*	1,76±0,11*
<b>14-е сутки эксперимента</b>			

ТБК-активные продукты, мкмоль/л	8,41±0,10	7,83±0,11*	8,04±0,75
Каталаза, кат/л	7,88±0,15	9,44±0,17*	9,49±0,11*
GSH, ммоль/л	2,31±0,20	3,54±0,08*	2,63±0,11
<b>21-е сутки эксперимента</b>			
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	8,98±0,66	5,78±0,53*	6,61±0,46*
Каталаза, кат/л	12,32±0,05	15,00±0,59*	12,42±0,63
GSH, ммоль/л	3,33±0,22	4,29±0,24*	3,87±0,23

Данные, представленные в таблице 1, демонстрируют, что на фоне применения линимента Пятилистника кустарникового уровень ТБК-активных продуктов на 7 сутки снижается на 39,93 % и составляет 9,08 мкмоль/л; на 14 сутки до 7,83 мкмоль/л, а на 21 сутки – на 36,34 %. Параллельно отмечается повышение показателей антиоксидантного статуса. Так активность каталазы в сыворотке крови крыс возрастает на фоне применения указанного средства. Уровни прироста указанного фермента составили – 11,71 % и 58,83 %. Содержание восстановленного глутатиона повысилось на 86,78 % на 14 сутки, а 21 сутки – на 215,44. Избыточное образование продуктов перекисного окисления липидов, характерное в первую фазу раневого процесса, на фоне применения линимента Пятилистника кустарникового эффективно сдерживается благодаря влиянию биологически активных веществ, в частности флавоноидов и других соединений, содержащихся в действующем веществе используемого средства, со значимым повышением активности каталазы и уровня восстановленного глутатиона. Эффекты препарата сравнения – линимента бальзамического были менее выражены, на порядок меньше. С этими данными согласуются и показатели антиоксидантного статуса в данной группе крыс: активность каталазы в сыворотке нарастает медленными темпами, содержание восстановленного глутатиона на фоне применения линимента по Вишневному мало изменялось в наших опытах. Очевидно, что высокореактивные соединения, являющиеся продуктами ПОЛ, вызывают не только прямое цитотоксическое действие на поджелудочную железу, но и запускают механизмы повреждения сосудистой системы, что имеет прямой негативный эффект при заживлении ран у животных с сахарным диабетом. Существенная роль активации ПОЛ в патогенезе сахарного диабета подтверждается благоприятным эффектом антиоксидантных препаратов на процессы ранозаживления. Ускоренное заживление раневых дефектов на фоне линимента Пятилистника кустарникового обусловлена стимуляцией синтетической активности клеток и клеточной численности в зоне раневого повреждения (табл. 2). Так, на фоне применения

указанных линиментов повышается синтетическая активность клеток и их численность, что свидетельствует о стимуляции ими регенерационных процессов на фоне ингибирования свободнорадикальных реакций при повреждении кожи.

Таблица 2

Влияние линимента Пятилистника кустарникового на синтетическую активность клеток при раневом повреждении кожи у крыс с сахарным диабетом (14 сутки)

Препарат	РНК	ДНК
Линимент Пятилистника кустарникового, произведенный на аппарате NanoDeVee30	0.892±0.03*	0.914±0.02*
Линимент бальзамический по Вишневскому	0.681±0.02*	0.707±0.03*
Вазелин-глицериновая основа мази (контроль)	0.658±0.01	0.731±0.01

Из представленных данных следует, что на фоне применения линимента Пятилистника кустарникового значительно активизируется синтетическая активность клеток в зоне повреждения. Очевидно, что благодаря такой высокой активности синтетических процессов ускоряются процессы ранозаживления у крыс с сахарным диабетом. Безусловно, малые размеры экстрактивных веществ и однородность, достигаемые при гомогенизации, повышают биодоступность биологически активных веществ и тем самым ускоряют репаративные процессы. Определенно, что этот биофармацевтический фактор играет весомую роль в достижении фармакотерапевтического эффекта.

Таким образом, при использовании мази Пятилистника кустарникового отмечается форсирование процесса ранозаживления у животных с экспериментальным сахарным диабетом, при этом благодаря достоверной интенсификации синтеза нуклеиновых кислот и повышению антиоксидантного статуса эффективно преодолеваются негативные последствия нарушений обмена веществ и торпидное течение раневого процесса на фоне сахарного диабета. В связи с этим дальнейшие разработки в этом направлении позволят развивать фармакотерапевтические стратегии с учетом «фармацевтических факторов» против цитотоксичности продуктов перекисного окисления липидов с обоснованием применения

антиоксидантных средств местного действия, стимуляторов регенерации при раневых повреждениях кожи у больных сахарным диабетом. В связи с этим дальнейшие разработки в этом направлении позволят развивать фармакотерапевтические стратегии против цитотоксичности продуктов перекисного окисления липидов [8] с обоснованием перспективы применения антиоксидантных средств местного действия при раневых повреждениях кожи у больных сахарным диабетом.

### Список литературы

1. Ефимов А.С., Науменко В.Г. Перекисное окисление липидов в эритроцитах больных сахарным диабетом с диабетическими ангиопатиями // Пробл. Эндокринолог. – 1985. – № 1. – С.6-9.
2. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 6. – С.16-19.
3. Клиническая эндокринология. Руководство / Н. Т. Старкова. – 3-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Питер, 2002. – 576 с.
4. Методы биохимических исследований / под ред. М.И. Прохорова. – Л., 1982. – 272 с. Николаева И.Г., Хобракова В.Б., Арьяева М.М. Пятилистник кустарниковый. – Улан-Удэ, 2001. – 110с.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / председатель ред. коллегии А.Н. Миронов. – М., 2012. – 944с.
6. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М., 2006. – 256с.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью ТБК // Современные методы биохимии. – М., 1977. – С.66-68.
8. Anderson T. Omeprazole drug interaction studies // Clin. Pharmacokinet. 1991. V.21. № 38. 1603р.
9. Fogelman A. M., Berliner J. A., Navab M. et al., Malondialdehyde alteration of LDL leads to cholesterol ester accumulation in human monocytes /macrophages // Proc Natl AcadSci USA. – 1980. – Vol. 77. – P. 2214-2218.