

В.Е. Хитрихеев¹, Б.-Ц.Н. Гармаев², М.И. Бальхаев¹, И.Г. Николаева²

ВЛИЯНИЕ ЛИНИМЕНТА ПЯТИЛИСТНИКА КУСТАРНИКОВОГО НА УРОВЕНЬ ТБК-АКТИВНЫХ ПРОДУКТОВ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ПРИ РАНЕВЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ КОЖИ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

¹ ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет», Улан-Удэ, Россия

² ФГБНУ «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, Улан-Удэ, Россия

Исследовано влияние на течение раневого процесса линимента, полученного на основе побегов Пятилистника кустарникового, с использованием аппарата NanoDeBee 30 (линимент) и линимента бальзамического (по Вишневскому). Установлено выраженное влияние исследуемого линимента на перекисное окисление липидов при раневом повреждении кожи на фоне экспериментального сахарного диабета. Результаты показали высокий ранозаживляющий эффект линимента Пятилистника кустарникового, в сравнении с действием линимента бальзамического.

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

INFLUENCE OF THE PENTAPHYLLOIDES FRUTICOSA L. LINIMENT ON TBA-ACTIVE PRODUCTS AND ANTIOXIDANT STATUS IN WOUND INJURIES ASSOCIATED WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

V.E. Khitrikheev¹, B.-T.N. Garmaev², M.I. Balkhaev¹, I.G. Nikolaeva²

¹ Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

² Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia

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 × 2.0 cm in size. 5 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 7th, 14th and 21st 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

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

Сахарный диабет – распространённое заболевание [2]. Ведущий синдром при сахарном диабете – хроническая гипергликемия, приводящая к нарушению обменов веществ, развитию сосудистых осложнений на фоне окислительного стресса [2, 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 показывают клинический опыт и результаты исследований, применение антиоксидантов позволяет нормализовать процессы перекисного окисления липидов и блокировать цитотоксическое действие последних. Существует чётко 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 [2]. Поэтому фармакотерапия раневого процесса у больных сахарным диабетом требует не только коррекции уровня сахара в крови, но и активного местного воздействия на раневую дефект с целью улучшения условий для заживления раны. Ранее проведённые исследования экстракта Пятилистника 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 Пятилистника кустарникового при ранах [5]

послужили основанием для разработки мягкой готовой формы из Пятилистника кустарникового для местного применения при лечении ран.

Цель исследования: оценить влияние линимента из экстракта побегов Пятилистника 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 тела 200–250 г, в соответствии с требованиями приказа № 267 МЗ РФ от 19.06.2003. Протокол исследования одобрен комиссией по этике при Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН (заключение за № 17 от 09.07.2015). Животные находились в стандартных условиях содержания и кормления в виварии (Приказ МЗ № 1179 от 10.10.1983). 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, внутрибрюшинно, в дозе 100 мг/кг [5], а через 2 суток воспроизводилось повреждение кожи путём нанесения плоскостных ран размерами 2,0 × 2,0 см. На раны животных первой опытной группы 1 раз в сутки на протяжении 14 суток накладывались 100 мг 5%-го 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-е, 14-е и 21-е сутки эксперимента

у крыс в сыворотке крови определяли концентрацию активного продукта тиобарбитуровой кислоты (ТБК) [4, 7] для оценки интенсивности процессов перекисного окисления липидов, а содержание в сыворотке крови восстановленного глутатиона (GSH) и активности каталазы – для определения состояния антиоксидантного статуса [3]. 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.

Данные, представленные в таблице 1, демонстрируют, что в 1-й опытной группе, где обработка раны производилась линиментом Пятилистника кустарникового, уровень ТБК-активных продуктов на 7-е сутки эксперимента ниже, чем в контрольной, на 39,93 % и составляет 9,08 мкмоль/л; на 14-е сутки содержание ТБК-активных продуктов снижается до 7,83 мкмоль/л, а на 21-е сутки – на 36,34 %. Параллельно отмечается повышение показателей антиоксидантного статуса. Так, активность каталазы 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-е сутки, а на 21-е сутки – на 215,44 %. Избыточное образование продуктов перекисного окисления липидов, характерное в первую фазу раневого процесса, на фоне применения линимента Пятилистника кустарникового эффектив-

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. изм.	Группы животных		
	Глицерин-валелиновая основа мази (контроль) (n = 8)	Линимент Пятилистника кустарникового, произведённый на аппарате NanoDeBee30 (n = 10)	Линимент Пятилистника кустарникового, произведённый по аптечной технологии (n = 8)
7-е сутки эксперимента			
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*
14-е сутки эксперимента			
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
21-е сутки эксперимента			
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

но сдерживается благодаря влиянию биологически активных веществ, в частности флавоноидов и других соединений, содержащихся в действующем веществе используемого средства. Следствием воздействия их является значимый прирост активности каталазы и уровня восстановленного глутатиона.

Во 2-й опытной группе, где использовался препарат сравнения – линимент бальзамический, – эффект был менее выражен. Данные указывают также на наличие положительного действия линимента Вишневского на ранозаживление, но эффективность его на порядок меньше выражена, чем действие линимента на основе Пятилистника кустарникового. С этими данными согласуются и показатели антиоксидантного статуса во 2-й опытной группе: активность каталазы нарастает медленными темпами. Показатели содержания восстановленного глутатиона на фоне применения линимента по Вишневскому мало изменялись в наших опытах (табл. 1). Необходимо отметить, что лишь на 7-е сутки опыта активность каталазы во 2-й опытной группе была выше, чем в контрольной ($p < 0,05$).

Таким образом, увеличение высокореактивных соединений, являющихся продуктами ПОЛ, вызывает не только прямое цитотоксическое действие [1, 2, 8], но и запускает, очевидно, механизмы повреждения сосудистой системы, что имеет прямой негативный эффект при заживлении ран у животных сахарным диабетом. Существенная роль ПОЛ в патогенезе сахарного диабета подтверждается благоприятным эффектом антиоксидантных препаратов на процессы ранозаживления [1]. В связи с этим дальнейшие разработки в этом направлении позволят развить 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.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Ефимов А.С., Науменко В.Г. Перекисное окисление липидов в эритроцитах больных сахарным диабетом с диабетическими ангиопатиями // Пробл. эндокринологии. – 1985. – № 1. – С. 6–9.

Efimov AS, Naumenko VG (1985). Lipid peroxidation in erythrocytes of diabetic patients with diabetic angiopathy [Perekisnoe okislenie lipidov v eritrotsitakh bol'nykh sakharnym diabetom s diabeticheskimi angiopatiyami]. *Problemy endokrinologii*, (1), 6–9.

2. Клиническая эндокринология. Руководство / Под ред. Н.Т. Старкова. – СПб.: Питер, 2002. – 576 с.

Starkov NT (ed.) (2002). *Clinical endocrinology. Manual* [Klinicheskaya endokrinologiya. Rukovodstvo], 576.

3. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 6. – С. 16–19.

Korolyuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG (1988) Method for determining catalase activity [Metod opredeleniya aktivnosti katalazy]. *Laboratornoe delo*, (6), 16–19

4. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохорова. – Л., 1982. – 272 с.

Prokhorov MI (ed.) (1982). *Methods of biochemical research* [Metody biokhimicheskikh issledovaniy], 272.

5. Николаева И.Г., Хобракова В.Б., Арьяева М.М. Пятилистник кустарниковый. – Улан-Удэ, 2001. – 110 с.

Nikolaeva IG, Khobrakova VB, Aryayeva MM (2001). *Pentaphylloides fruticosa* L. [Pyatolistnik kustarnikovyy], 110.

6. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М., 2006. – 256 с.

Sergienko VI, Bondarev IB (2006). *Mathematical statistics in clinical trials* [Matematicheskaya statistika v klinicheskikh issledovaniyakh], 256.

7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью ТБК // Современные методы биохимии. – М., 1977. – С. 66–68.

Stalnaya ID, Garishvili TG (1977). Method for determination of malondialdehyde using TBA [Metod opredeleniya malonovogo dial'degida s pomoshch'yu TBK]. *Sovremennyye metody biokhimii*, 66–68.

8. Anderson T (1991). Omeprazole drug interaction studies. *Clin. Pharmacokinet*, 21 (38), 1603.

9. Fogelman AM, Berliner JA, Navab M et al. (1980). Malondialdehyde alteration of LDL leads to cholesterol ester accumulation in human monocytes/macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (77), 2214–2218.

Сведения об авторах Information about the authors

Хитрихеев Владимир Евгеньевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии, директор медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (670002, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская, 36а; тел.: 8 (3012) 45-84-02)

Khitrikheev Vladimir Evgenyevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Hospital Surgery, Dean of the Medical Faculty of Buryat State University (670002, Ulan-Ude, Oktyabrskaya str., 36a; tel.: +7 (3012) 45-84-02)

Гармаев Бато-Цырен Нимаевич – аспирант ФГБНУ «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (e-mail: garmaev.bato@mail.ru)

Garmaev Bato-Tsyren Nimaevich – Postgraduate of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: garmaev.bato@mail.ru)

Бальхаев Михаил Илларионович – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет»

Balkhaev Mikhail Illarionovich – Candidate of Medical Sciences, Senior Teacher of the Department of Hospital Surgery of Medical Faculty of Buryat State University

Николаева Ирина Геннадьевна – доктор фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории медико-биологических исследований ФГБНУ «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (тел.: 8 (3012) 43-34-63; e-mail: i-nik@mail.ru)

Nikolaeva Irina Gennadyevna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Medical and Biological Researches of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (tel.: +7 (3012) 43-34-63; e-mail: i-nik@mail.ru)