



УДК: 576.3.7/57.023

Азизбек АБДУЛЛАЕВ,

Базовый докторант Института биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова Ан РУз
E-mail: a.abdullaev.scientist@gmail.com

Улугбек ГАЙИБОВ,

Старший научный сотрудник Института биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова Ан РУз
E-mail: gayibov.ulugbek@gmail.com

Сабина ГАЙИБОВА,

Старшая научная сотрудница Института биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова Ан РУз
E-mail: gayibova.sabina@gmail.com

Тахир АРИПОВ,

Академик Академии наук РУз
E-mail: takhir_aripov@mail.ru

На основании рецензии старшего научного сотрудника, PhD. Ю.Т.Мирзаева Института биофизики и биохимии при НУУз

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА *SILYBUM MARIANUM* НА ОКСИДЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ОРГАНОВ ПРИ МОДЕЛИ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА

Аннотация

В последние годы заметно повысился интерес к использованию средств растительного происхождения для коррекции различных патологических состояний возникает необходимость изучения механизмов их действия. Появившиеся за несколько лет данные о широком биологическом действии *Silybum marianum* (антигепатотоксической, противовоспалительном, анти – оксидантном и других.) делают перспективным изучение механизма ее влияния при различных патологиях, в частности, при сахарном диабете (СД). Установлено специфическое действие *silybum marianum* на различные органы и ткани: кожу, мозг, кости, желудочно–кишечный тракт, печень и дыхательную систему. Таким образом возможность использования данного экстракта в виде фитопрепарата в составе комплексной лекарственной терапии при разных патологиях, вызывающих оксидативный стресс, имеет большой теоретический и практический интерес.

Ключевые слова: Сахарный диабет, активные формы кислорода, перекисное окисление липидов, гомогенат, аллоксан.

ALLOKSAN DIABET MODELIDAGI ORGANLARNING OKSIDATIV STRESSIGA *SILYBUM MARIANUM* EKSTRAKTINING TA'SIRI

Аннотация

So'nggi yillarda turli xil patologik sharoitlarni tuzatish uchun o'simlik vositalaridan foydalanishga qiziqish sezilarli darajada oshdi va ularning ta'sir qilish mexanizmlarini o'rganish zarurati paydo bo'ldi. *Silybum marianum* ning turli organlar va to'qimalarga o'ziga xos ta'siri aniqlangan: teri, miya, suyaklar, oshqozon-ichak trakti, jigar va nafas olish tizimi va boshqalar. Shunday qilib, bu yekstraktdan oksidlovchi stressni keltirib chiqaradigan turli patologiyalar uchun kompleks dori terapiyasining bir qismi, fitopreparat sifatida foydalanish imkoniyati katta nazariy va amaliy qiziqish uyg'otadi.

Kalit so'zlar: Qandli diabet, kislorodning reaktiv turlari, lipidlarning peroksidlanishi, gomogenat, alloksan.

INFLUENCE OF *SILYBUM MARIANUM* EXTRACT ON OXIDATIVE STRESS OF ORGANS IN THE MODEL OF ALLOXAN DIABETES

Аннотация

In recent years, there has been a marked increase in interest in the use of herbal remedies for the correction of various pathological conditions, there is a need to study the mechanisms of their action. The data that have appeared over the years on the broad biological effects of *silybum marianum* (antihepatotoxic, anti-inflammatory, antioxidant, etc.) make it promising to study the mechanism of its influence in various pathologies, in particular, in diabetes mellitus (DM). The specific effect of *silybum marianum* on various organs and tissues has been established: skin, brain, bones, gastrointestinal tract, liver and respiratory system. Thus, the possibility of using this extract as a phytopreparation as part of complex drug therapy for various pathologies that cause oxidative stress is of great theoretical and practical interest.

Key words: Diabetes mellitus, reactive oxygen species, lipid peroxidation, homogenate, alloxan.

Введение. Сахарный диабет. В последние годы заметно повысился интерес к использованию средств растительного происхождения для коррекции различных патологических состояний [1, 2]. Возникает необходимость изучения механизмов их действия. Появившиеся за несколько лет данные о широком биологическом действии *silybum marianum* (антигепатотоксической [3], противовоспалительном, антиоксидантном [4] и др.) делают перспективным

изучение механизма ее влияния при различных патологиях, в частности, при окислительном стрессе, возникающий в результате сахарного диабета (СД). По литературным данным известно специфическое действие *silybum marianum* на различные органы и ткани: кожу, мозг, кости, желудочно-кишечный тракт, печень и дыхательную систему. В острых и хронических экспериментах на мышах, крысах [5], морских свинках и обезьянах было показано, что экстракт *silybum marianum* не оказывает токсического действия на организм. Кроме этого, был проведен фитохимический скрининг на наличие вторичных метаболитов и изучено антиоксидантное действие экстракта *silybum marianum* в условиях *in vitro* [18].

Согласно данным Международной федерации диабета, в мире этим заболеванием страдает более 425 миллионов человек, и большую их часть составляют больные сахарным диабетом второго типа. В Узбекистане количество больных сахарным диабетом составляет более 245 тысяч, из них более 2300 детей и 879 подростков [7]. Таким образом возможность использования растительных экстрактов в виде фитопрепаратов в составе комплексной лекарственной терапии при разных патологиях, вызывающих оксидативный стресс, имеет большой теоретический и практический интерес.

1.2 Оксидативный стресс

Оксидативный стресс - это нарушение, при котором равновесие между стрессорами и антиоксидантами нарушается в пользу преобладания стрессорных факторов, что приводит к образованию в организме свободных радикалов [8]. Окисление и восстановление - ключевые процессы в жизни живой клетки, в которых активно участвует кислород. Но иногда бывает, что в организме образуется слишком много радикальных атомов кислорода. Это очень активные атомы, которые присоединяются к жизненно важным молекулам, например, ДНК или ненасыщенным жирам, и окисляют их.

Если число таких агрессивных атомов кислорода, или свободных радикалов, выше некоей критической массы, запускается цепная реакция, в результате которой гибнут клетки [9].

Активные формы кислорода (АФК) — свободные радикалы, прооксиданты — представляют собой молекулярные частицы, имеющие непарный электрон на внешней орбите и обладающие высокой реакционной способностью, которая заключается в повреждении белков, нуклеиновых кислот и липидов биологических мембран клеток [10]. Нарушение обмена веществ и энергии, накопление активных повреждающих агентов (свободных радикалов, прооксидантов, АФК), инициирующих повреждение клеток и ведущих к развитию различных патологических состояний, получило название оксидативного стресса [11]. Его основу составляет свободнорадикальное окисление жирных кислот, или так называемое перекисное окисление липидов (ПОЛ) [10].

1.3 Перекисное окисление липидов (ПОЛ)

В настоящее время доказано, что процесс ПОЛ начинается с реакции инициирования цепи, вследствие которой образуются супероксидный и гидроксильный радикалы [11]. Субстратами ПОЛ являются полиненасыщенные жирные кислоты, а также основные липиды плазмы крови – холестерин и триглицериды. Вследствие того, что первичным стабильным продуктом процесса окисления ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов являются гидроперекиси, данный процесс называют перекисным. Результатом этого может быть перекисная деградация молекул фосфолипидов, что влечёт за собой изменение структуры клеточных мембран и липопротеидов [12]. В результате появляются молекулы, содержащие сопряжённые двойные связи (диеновые конъюгаты), которые являются первичными продуктами ПОЛ. Конечные продукты перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот – это продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (ТБК активные продукты или (малоновый диальдегид)) и продукты полимеризации – поликонденсации липидов – шиффовы основания [13].

Для изучения эффекта экстракта *silybum marianum* и механизмов ее действия выбран СД, согласно статистическим данным Всемирной организации здравоохранения [6].

Материалы и методы. Работа выполнена в лаборатории Растительных цитопротекторов Института биоорганической химии АН РУз, Ташкент, Узбекистан.

2.1. Полечение экстракта

В работе использовали экстракт растения *silybum marianum*, предоставленный ООО «Bioton». Процесс экстракции проводили в 70% растворе этанола. Затем очищали от балластных веществ, концентрировали под вакуумом и сушили при температуре не выше 60°C.

2.2. Экспериментальный дизайн

Эксперименты проводили на 30 беспородистых белых крысах-самцах массой 180–220 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении, свободном доступе к воде и пище. Модель экспериментального СД вызывали однократным внутривенным введением аллоксана (Lachema, Чехословакия) в дозе 130 мг/кг массы тела животного. Для формирования СД животные в течение 24 суток до начала инъекций аллоксана не получали корм. В ходе эксперимента у животных учитывалось количество заболевших крыс, процент их гибели, изучались показатели массы тела, уровни глюкозы в сыворотке крови, моче и поведение животных. Крыс разделили на 3 экспериментальных групп. Животные первой экспериментальной группы использовали в качестве контроля (условно здоровые), второй группе экспериментальных животных вводили аллоксангидрат в дозе 130 мг/кг массы тела животного для формирования СД, третьей группе животных перорально вводили экстракт *silybum marianum* в дозе 75мг/кг с 14-го дня после моделирования СД у животных. Животные получали экстракт в течение 14 дней каждые 2-3 дня. На 15-й день животное декапитировали, выделяли органы и измеряли уровень малонового диальдегида (МДА) в гомогенате каждого органа. Уровень окислительного стресса оценивали спектрофотометрически при длине волны 532 нм. Концентрацию МДА в гомогенате рассчитывали по формуле молярной экстинкции – $C_{\text{МДА}} = (\Delta D / 0,156) \times 16$ согласно М. Uchiyama, М. Mihara [Analytical Biochemistry. Volume 86, Issue 1, Pages 271 – 278 М. Uchiyama, М. Mihara]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ Origin-6.1 (США).

2.3. Анализ малонового диальдегида (МДА)

Реактивные вещества тиобарбитуровой кислоты (ТБАРС), измеряемый как показатель продукции МДА и, следовательно, перекисного окисления липидов, оценивали в тканях по методу Хита и Пакера [14]. Для этого, над осадочную жидкость ткани (1 мл) добавляли в пробирки, содержащие 4 мл ТХУК (трихлоруксусной кислоты) 20%,

содержащей ТБК (тиобарбитуровую кислоту) 0,5%, и реакционную смесь нагревали при 95°C в течение 30 минут и после охлаждения, центрифугировали при 10000 g в течение 10 мин; Комплекс МДА_ТБК измеряли с помощью спектрофотометра при 532 нм. [15]

2.4. Этическое соображение

Протокол исследования и все процедуры на животных были одобрены старшим научным сотрудником, PhD Гайибов Улугбек Гаппаржанович.

2.5. Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ Origin-6.1 (США).

Результаты и обсуждение. Свободные радикалы – высокореактивные соединения, которые могут нарушить структуру и функцию животных и растительных клеток. Организмы подвержены их воздействию постоянно. Известно, что основной причиной развития многих заболеваний человека и животных являются свободные радикалы. В связи с этим нами исследовано действие экстракта *Silybum marianum* на процесс окислительного стресса различных органов животных. В качестве индуктора ОС был использован классический диабетоген - аллоксан.

После введения аллоксана уже на 3 сутки эксперимента у большинства животных опытной и контрольной групп развилась стойкая гипергликемия, полиурия, полидипсия и полифагия. В первые дни исследования массы крыс не менялись. Однако начиная с 16-го дня моделирования СД масса крыс стремительно прибавлялась в среднем на 10 – 15%. У крыс интактной группы уровень окислительного стресса не наблюдалась и не выражалась высокой концентрацией МДА в гомогенатах. Результаты интактной группы приведены на рисунке 1.

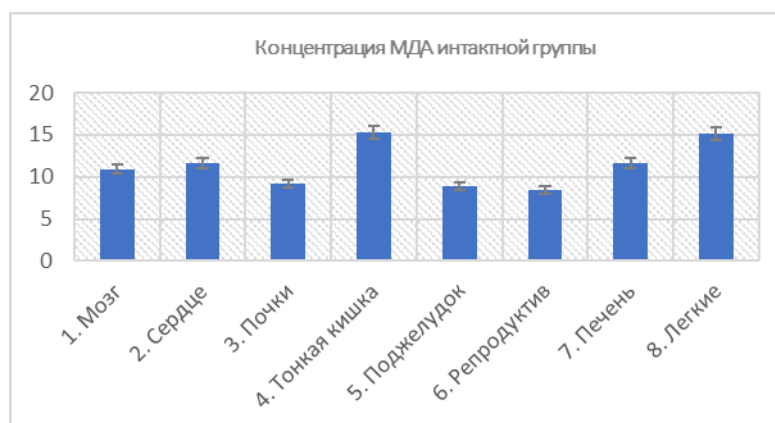


Рис.1. Концентрация МДА (нМоль/л) в гомогенатах различных органов.

Примечание.

Количественные показатели уровня МДА составляли: 10.94±0.42 (головной мозг), 11.65±0.15 (сердце), 15.11±0.87 (легкие), 11.65±0.15 (печень), 9.19±0.36 (почки), 8.85±0.41 (поджелудочная железа), 15.35±0.42 (тонкий кишечник), 8.44±0.15 (яички).

Согласно полученным данным, у крыс с аллоксановым диабетом наблюдался выраженное увеличение процесса перекисного окисления липидов практически во всех органах, которая выражалась высокой концентрацией МДА в гомогенатах (рис. 2).

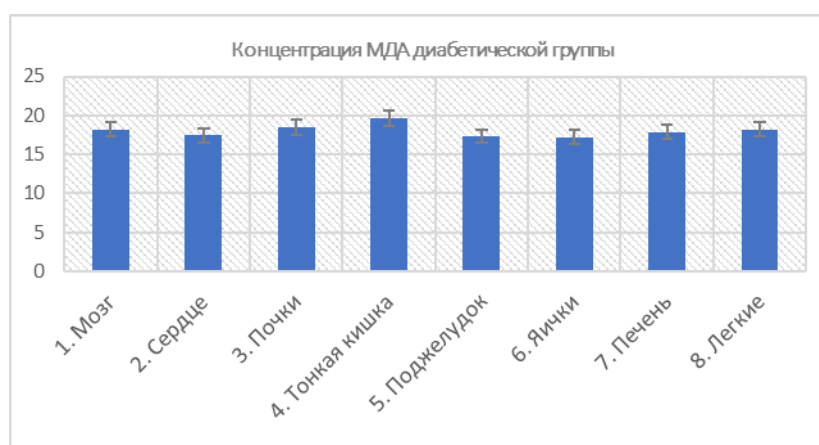


Рис.2. Концентрация МДА (нМоль/л) в гомогенатах различных органов.

Примечание

Количественные показатели уровня МДА составляли: 18.22±0.21 (головной мозг), 17.43±1.02 (сердце), 18.18±0.42 (легкие), 17.84±1.08 (печень), 18.49±0.69 (почки), 17.33±0.88 (поджелудочная железа), 19.65±0.36 (тонкий кишечник), 17.23±0.71 (яички).

При введении экстракта *Silybum marianum* животным с аллоксановым диабетом уровень МДА существенно снижался до контрольного уровня (отрицательный контроль).

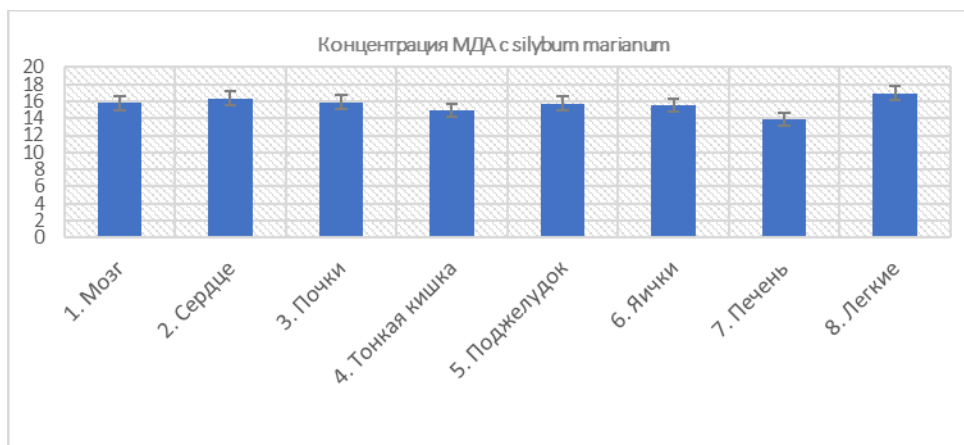


Рис.3. Концентрация МДА (нМоль/л) в гомогенатах различных органов.

Примечание

Количественные показатели уровня МДА составляли: 15.79±0.41 (головной мозг), 16.30±0.67 (сердце), 16.92±0.20 (легкие), 13.88±0.25 (печень), 15.89±0.10 (почки), 15.76±0.31 (поджелудочная железа), 15.00±0.15 (тонкий кишечник), 15.55±0.15 (яички). Значительное снижение уровня МДА наблюдалась в печени.

По результатам нашего анализа *Silybum marianum* проявил умеренную антиоксидантную активность в условиях *in vivo*. Наиболее выраженная антиоксидантная активность наблюдалась в гомогенате печени. Возможно, антиоксидантная активность обусловлена наличием в экстракте полифенолов, флавоноидов, танинов и силимарина, которое способствует протекторному (защитному) воздействию на печень, подходит для профилактики и в комплексной терапии. Кроме этого, силимарин также обладает антиоксидантным действием, тем самым защищает клетки печени от повреждения свободными радикалами [16]. Эта способность силимарина приводит к заметному усилению механизма клеточной антиоксидантной защиты за счет смягчения вредных последствий свободнорадикальной реакции и увеличения содержания глутатиона, который жизненно важен для сохранения состояния железа [17].

Заключение. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что экстракт *Silybum marianum* проявляет умеренную антиоксидантную активность в условиях *in vivo* и может быть рекомендован для применения при разных патологиях, вызывающих оксидативный стресс, особенно в патологиях печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джафарова Р.Э., Гараев Г.Ш., Джафаркулиева З.С. Действия экстракта листьев черники обыкновенной на течение патологического процесса аллоксан- индуцированного сахарного диабета // Фундаментальные исследования. 2010. № 4. С. 36–43.
2. Митрофанова И.Ю., Яницкая А.В., Бутенко Д.В. Методологические основы выбора растительных объектов в качестве источников фитопрепаратов // Фундаментальные исследования. 2012. № 10. С. 405–408.
3. Питкевич1, А. Н. Лызиов1, С. В. Цаприлова2 Расторопша пятнистая - *Silybum marianum* (L) с Проблемы здоровья и экологии С.121
4. Екатерина Комиссарова // Так ли полезна расторопша, как принято считать 2 марта 2020/ Ликбез/ Здоровье.
5. И. В. Гинжол, С. А. Шнайдер, д. мед. н., И. А. Селиванская. Влияние гепатопротектора, содержащего жмых расторопши, на состояние слизистой оболочки щеки крыс с токсическим гепатитом // “Вісник стоматології”, № 4, 2016.
6. Всемирная здравоохранения. URL: <https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019>
7. URL: <https://www.gazeta.uz/ru/2021/11/15/diabetes/>
8. URL: <https://minu.synlab.ee/ru/chto-takoe-oksidativnyj-stress>
9. Васильковская Ирина Вячеславовна / Что такое оксидативный стресс. 22 ноября 2019 года
10. Нагорная Н.В., Четверик Н.А. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки // Фундаментальная медицина 2010. С. 141
11. Курашвили В.А. Купирование оксидативного стресса с помощью натуральных антиоксидантов // <http://vitadoctor.com.ua>.
12. Cruz A, Padillo FJ, Tuncel I. (2001). Melatonin protects against renal oxidative stress after obstructive jaundice in rats. Eur. J. Pharmacol., 425 (2), 135-139.
13. Владимиров Ю.А. Биологические мембраны и незапрограммированная смерть клетки // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – № 6 (9). – С. 2-9.
14. Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Arch Biochem Biophys 1968; 125: 189-198.
15. Seddigheh Sheikh Hosseini M.Sc., Ali Gol Ph.D., Moje Khaleghi Ph.D. The effects of the Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 on the oxidative stress of
16. Reproductive system in diabetic male rats //International Journal of Reproductive BioMedicine Volume 17, Issue no. 7, <https://doi.org/10.18502/ijrm.v17i7.4861>
17. Production and Hosting by Knowledge.

-
18. Peter F. Surai. Silymarin as a Natural Antioxidant: An Overview of the Current Evidence and Perspectives // www.mdpi.com/journal/antioxidants
 19. Sepideh Elyasi. Silybum marianum, antioxidant activity, and cancer patients // Cancer, SECTION B Antioxidants and cancer. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819547-5.00043-2>
 20. Тураходжаев М.Т., Маматова З.А., Гайибов У.Г., Гайибова С.Н., Абдуллаева М.О., Арипов Т.Ф. Фитохимический скрининг, антиоксидантная и антирадикальная активность экстракта *Silybum marianum* L. Gaertn // Universum: химия и биология : электрон. научн. журн. 2022. 5(95). <https://doi.org/10.32743/UniChem.2022.95.5.13495>