

© Коллектив авторов, 2018  
УДК 616.379-008.64

Федорова Т.В.<sup>1</sup>, Торкова А.А.<sup>1</sup>, Лисицкая К.В.<sup>1</sup>, Алчинова И.Б.<sup>2</sup>

## Гипогликемические свойства пектина из тыквы (*Cucurbita maxima d.*) при аллоксан-индуцированном сахарном диабете

<sup>1</sup> Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Россия, 119071, г. Москва, Россия, Ленинский просп., д. 33, стр. 2

<sup>2</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Россия, 125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

Биохимическим маркером сахарного диабета и его тяжелейших осложнений является гипергликемия. В качестве новых средств растительного происхождения, обладающих гипогликемической активностью, в настоящее время рассматривают пектины. **Цель** исследования — оценка функциональных свойств пектина, полученного из тыквенного жома с использованием кавитационно-мембранной технологии. **Методика.** Использована модель аллоксан-индуцированного сахарного диабета. Эксперимент проводили на крысах — самцах Wistar (инъекции раствора аллоксана моногидрата из расчета 43 мг/кг массы). Развитие диабета подтверждалось уровнем глюкозы (>10 мМ) в периферической крови. Для тестирования гипогликемической активности тыквенного пектина опытной группе крыс внутрижелудочно с помощью металлического зонда (Kent Scientific, США) вводили 5% раствор пектина в дистиллированной воде в дозировке 25 мг/100 г живой массы в сутки в течение 3 нед. Пектин, полученный из тыквенного жома с использованием кавитационно-мембранной технологии, имел следующие характеристики: диапазон молекулярных масс 90—120 кДа, содержание полигалактуроновой кислоты в среднем около 75% и степень этерификации 72%, что позволяет его отнести к пектинам с высокой степенью этерификации. **Результаты.** У животных 2-й и 3-й групп по истечении 1—3 нед. после воспроизведения диабета выявлена гипергликемия — уровень глюкозы в цельной крови был значимо выше. Статистический анализ «size effect» показал, что в начале эксперимента различия в уровне глюкозы в крови животных 2-й и 3-й групп незначительны ( $d_{Cohen} = 0,39$ ). Через 3 нед. они достигают среднего эффекта ( $d_{Cohen} = 0,50$ ). Этот факт можно расценивать как тенденцию к нормализации уровня глюкозы на фоне приема тыквенного пектина. Значимое снижение сывороточной концентрации фруктозамина в опытной группе показало гипогликемический эффект тыквенного пектина. Введение пектина животным также снижало содержание холестерина в печени и сывороточную концентрацию неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК), демонстрируя его гипохолестеринемические свойства. Антиоксидантные свойства пектина проявлялись нормализацией уровня ТБК-реактивных продуктов в сыворотке крови опытной группы животных. **Заключение.** Подтверждены гипогликемический, гипохолестеринемический и антиоксидантный эффекты пектина из тыквы (*Cucurbita maxima D.*) при аллоксан-индуцированном сахарном диабете.

**Ключевые слова:** активные формы кислорода; аллоксан-индуцированный сахарный диабет; тыквенный пектин; фруктозамин; холестерин.

**Для цитирования:** Федорова Т.В., Торкова А.А., Лисицкая К.В., Алчинова И.Б. Гипогликемические свойства пектина из тыквы (*Cucurbita maxima d.*) при аллоксан-индуцированном сахарном диабете. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2018; 62(2): 82—89.

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.02.82-89

**Для корреспонденции:** Федорова Татьяна Васильевна, канд. техн. наук, и.о. зав. лаб. молекулярных основ биотрансформаций Института биохимии им. А.Н. Баха, e-mail: fedorova\_tv@mail.ru

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 16-16-00094).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 13.08.2017

Fedorova T. B.<sup>1</sup>, Torkova A.A.<sup>1</sup>, Lisitskaya K.V.<sup>1</sup>, Alchinova I.B.<sup>2</sup>

## Hypoglycemic properties of pectine from pumpkin (*Cucurbita maxima* d.) in a model of alloxan-induced type 1 diabete mellitus

<sup>1</sup> A.N. Bach Institute of Biochemistry, the Federal Research Center «Fundamentals of Biotechnology», Russian Academy of Sciences, Leninsky Prosp. 33, Bldg 1, Moscow 119071, Russia

<sup>2</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russia,

Hyperglycemia is a biochemically defined initial symptom of diabetes and its serious complications (atherosclerosis, retinopathy, kidney damage). Pectins are currently considered as novel plant-produced hypoglycemic agents. **The aim** of this study was to evaluate bio-functional properties of pumpkin pectin obtained from pumpkin pulp using cavitation-membrane technologies in a model of alloxan-induced diabetes. **Methods.** Male Wistar rats were used in the experiments. Diabetes was modeled by injections of 4.3% alloxan monohydrate solution. The development of diabetes was confirmed by glucose concentration in peripheral blood (glucose levels of >10 mM in whole blood was consistent with diabetes). To test the hypoglycemic activity of pumpkin pectin, a 5% pectin solution in distilled water was administered to rats of the experimental group (25 mg/100 g body weight, daily, for three weeks) through a metal gastric tube (Kent Scientific, USA). **Results.** A significant decrease of fructosamine concentration observed in the experimental group indicated a hypoglycemic effect of pectin. Administration of pectin to animals also reduced concentrations of cholesterol in liver and non-esterified fatty acids (NEFAs) in blood serum, which demonstrated cholesterol-lowering properties of pectin. Antioxidant properties of pectin provided a decrease in serum TBA-reactive products to the level observed in non-diabetic rats, in pectin-treated diabetic animals compared to the untreated diabetic group.

**Keywords:** alloxan-induced diabetes mellitus, cholesterol, pumpkin pectin, reactive oxygen species, fructosamine.

**For citation:** Fedorova T.B., Torkova A.A., Lisitskaya K.V., Alchinova I.B. Hypoglycemic properties of pectine from pumpkin (*Cucurbita maxima* d.) *in vivo* on the model of alloxan-induced diabete mellitus type 1. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62 (2): 82—89. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2018.02.82-89

**For correspondence:** Fedorova Tatyana Vasilievna, Ph.D., Acting Head of the Laboratory of molecular fundamentals of biotransformation of the Institute of Biochemistry. A.N. Bach, Russian Academy of Sciences; 33 Leninsky prosp., Moscow, 119071, e-mail: fedorova\_tv@mail.ru

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The work was supported by the Russian Science Foundation (Grant № 16-16-00094).

### Information about authors:

Fedorova T.B. <https://orcid.org/0000-0002-0355-6800>

Torkova A.A. <https://orcid.org/0000-0002-7671-8655>

Lisitskaya K.V. <https://orcid.org/0000-0002-3922-5253>

Alchinova I.B. <http://orcid.org/0000-0001-5294-7317>

**Received** 13.08.2017

## Введение

Биохимическим маркером сахарного диабета и его тяжелых осложнений (атеросклероза, ретинопатий, поражений почек) является гипергликемия.

В качестве новых средств растительного происхождения, обладающих гипогликемической активностью, в настоящее время рассматривают пектины. Это сложные, являющиеся структурными элементами тканей растений, которые широко используются в пищевой промышленности и являются природными энтеросорбентами. Пектины легко образуют комплексы с двухвалентными металлами, в том числе с ионами токсичных элементов (ртути, свинца, кадмия), что обуславливает их цитопротективный эф-

фект, обладают антиоксидантным, гипогликемическим, гипохолестеринемическим и иммуномодулирующим действием [1, 2]. Значительное количество работ рассматривает также пребиотические свойства пектинов из различного растительного сырья, при этом установлена прямая взаимосвязь между составом кишечной микрофлоры и оказываемым полисахаридами гипогликемическим и гипохолестеринемическим действием [3, 4]. Строение пектиновой макромолекулы, в том числе и ее разветвленной области, важно для проявления свойств пектина и его биофункционального действия [5, 6, 7]. В свою очередь, строение и, как следствие, свойства пектинов зависят от растительного источника и способа их получения.

Обязательным этапом при поиске новых соединений с гипогликемической активностью является тестирование их свойств *in vivo* на лабораторных животных.

**Цель исследования** — тестирование *in vivo* гипогликемических свойств тыквенного пектина на модели аллоксан-индуцированного сахарного диабета.

### Методика

Эксперимент проводили на крысах — самцах Wistar с начальной массой  $302 \pm 27$  г. В ходе эксперимента все животные содержались в стандартных условиях вивария. Наиболее перспективной для тестирования соединений с гипогликемической активностью в настоящее время является модель аллоксан-индуцированного сахарного диабета [8, 9]. Животным ( $n = 60$ ) в хвостовую вену вводили 4,3% раствор аллоксана моногидрата в физиологическом растворе в дозе 43 мг/кг веса. Животным контрольной группы ( $n = 10$ ) — группа 1 — внутривенно вводили аналогичное количество физиологического раствора. Пектин полученный из тыквенного жома с использованием кавитационно-мембранной технологии имел следующие характеристики: диапазон молекулярных масс 90—120 кДа, содержание полигалактуроновой кислоты в среднем около 75% и степень этерификации 72%, что позволяет его отнести к пектинам с высокой степенью этерификации [10].

На 3-й сут. после введения аллоксана отмечали развитие клинических симптомов сахарного диабета — полидипсии и полиурии, отмечались вялость и астенизация. С интервалом в 1 и 2 нед после воспроизведения диабета контролировали живую массу животных и уровень глюкозы в крови. Забор венозной крови проводили из подкожной боковой вены бедра. Содержание глюкозы в цельной крови определяли с помощью тест-полосок и портативного глюкометра One Touch Select (Accu check, США). Среди 60 животных опытной группы летальный исход наблюдался у 7 крыс (11,7%), развитие стойкой гипергликемии (уровень глюкозы в цельной крови  $>10$  мМ) — у 42 (70,0%), отсутствие симптомов гипергликемии или развитие нестойкой гипергликемии (уровень глюкозы в цельной крови  $>10$  мМ только в одной из временных точек) — у 11 (18,3%). В дальнейшем использованы животные только со стойкой гипергликемией, последние случайным образом были разделены на 2 группы: 2-я группа ( $n = 10$ ) — диабет, 3-я группа ( $n = 11$ ) — крысы с диабетом, в рацион которых вводили тыквенный пектин.

Анализ данных литературы по использованию пектинов из различного сырья показал, что гипогликемический эффект наблюдается в диапазоне доз от 20 до 500 мг/100 г массы животного в сутки [11, 12]. При тестировании гипогликемической актив-

ности тыквенного пектина нами выбрана дозировка 25 мг/100 г живой массы в сутки. Пектин опытной группе крыс вводили внутривенно с помощью металлического зонда (Kent Scientific, США) в виде 5% раствора пектина в дистиллированной воде в дозировке 25 мг/100 г живой массы в сутки в течение 3 нед.

В ходе эксперимента животным 3-й группы внутривенно с помощью металлического зонда (Kent Scientific, США) вводили 5% раствор пектина в дистиллированной воде. Животным 1-й и 2-й групп внутривенно вводили дистиллированную воду в дозировке 0,5 мл/100 г живой массы.

Животных выводили из эксперимента методом углекислотной эвтаназии. За 12 ч до окончания эксперимента животные лишались корма. Забор крови проводили из полости сердца с последующей декапитуацией животных гильотиной (Kent Scientific, США), вскрытием, анализом индексов массы и макроморфологии внутренних органов.

После окончания эксперимента в цельной крови и сыворотке определяли следующие биохимические показатели:

1 — Содержание фруктозамина в сыворотке крови с использованием набора реагентов Fructosamine (BioSystems, Испания).

2 — Концентрацию инсулина в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора EIA-2048 Insulin (Rat) Elisa (DRG International, Inc., США). Анализ проводили на микропланшетном фотометре-флуориметре Synergy 2 (BioTek, США).

3 — Определение содержания общего холестерина, триглицеридов, ЛПВП, ЛПНП, НЭЖК и белка в сыворотке крови экспериментальных животных проводили соответственно с использованием наборов реагентов Cholesterol (BioSystems, Испания), Triglycerides (BioSystems, Испания), Cholesterol HDL direct (BioSystems, Испания), Cholesterol LDL direct (BioSystems, Испания), SFA-1 96-well serum/plasma fatty acid kit (ZenBio, Inc., США) и Pierce BCA protein assay kit (Thermo Scientific, США). Оптическую плотность растворов определяли спектрофотометрически в 1 см пластиковых кюветах с использованием биохимического анализатора Stat Fax 3300 (Awareness Technology Inc., США).

4 — Анализ содержания НЭЖК и белка в сыворотке крови проводили на микропланшетном фотометре-флуориметре Synergy 2 (BioTek, США).

5 — Содержание ТБК-реактивных продуктов в сыворотке крови оценивали по методу M. Mihara с соавт. [13]. 0,2 мл сыворотки крови смешивали с 2 мл 1,4%-ной ортофосфорной кислоты и 1 мл 0,5%-ной тиобарбитуровой кислоты. Смесь инкуби-

ровали в кипящей бане 45 мин, после чего охлаждали и добавляли 2 мл н-бутанола. Пробирки тщательно встряхивали и центрифугировали при 4000 г в течение 20 мин. Верхнюю фазу фотометрировали против контрольной пробы в 96-луночных несорбирующих микропланшетах на фотометре-флуориметре Synergy 2 (BioTek, США) при 2-х длинах волн — 535 и 572 нм. В качестве стандарта для построения калибровочной зависимости использовали малоновый диальдегид (МДА). Содержание ТБК-реактивных продуктов в сыворотке крови выражали в единицах эквивалентной молярной концентрации (мкмоль/дм<sup>3</sup>) МДА.

6 — Антиоксидантную емкость (АОЕ) сыворотки крови и экстрактов липофильных и гидрофильных компонентов печени по отношению к пероксильному радикалу определяли по методу [14]. Перед проведением анализа: образцы сыворотки крови размораживали на льду и готовили рабочие разведения в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) рН 7,4 в 120 и 160 раз; гидрофильные экстракты печени разводили в 15—25 раз буфером ФСБ; липофильные экстракты печени разводили в 25—35 раз. Пероксильный радикал генерировался непосредственно в реакционной среде при термическом распаде азосоединения 2,2'-азобис(2-метилпропионамидина) дигидрохлорида (AAPH), инициируемом путем инкубации при 37°C в течение 10 мин. Для построения калибровочной кривой в качестве стандартного антиоксиданта использовали тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетра метилхро-ман-2-карбоновая кислота) (Trolox, «Sigma-Aldrich», США). Кинетику убыли свечения флуоресцеина при взаимодействии с пероксильным радикалом в отсутствие антиоксидантов (контроль) и в присутствии тролокса или анализируемых образцов (сыворотки крови, липофильных и гидрофильных экстрактов печени) в реакционной среде регистрировали в течение 1 ч с интервалом измерений 60 с при температуре 37°C на фотометре-флуориметре «Synergy 2» («BioTek», США) в режиме регистрации интенсивности флуоресценции (длина волны возбуждения — 485 нм, длина волны испускания — 528 нм). АОЕ сыворотки крови, липофильных и гидрофильных экстрактов печени по отношению к пероксильному радикалу выражали в мМ эквивалентов тролокса (ТЭ).

Для выделения липофильных и гидрофильных компонентов экстрактов печени, навеску ткани массой 200 мг помещали в смесь метанол-хлороформ (2:1) и 11,5% раствор хлорида калия соответственно. Гомогенизацию проводили в течение 5 мин при температуре +4°C в гомогенизаторе Silent Crusher S, снабженным насадкой 7F (Heildolph, Германия) при скорости вращения рабочего ножа 75000 об./мин.

Гомогенаты центрифугировали при температуре +4°C в течение 10 мин при 7000g и 20 мин при 30000g соответственно в случае липофильных и гидрофильных экстрактов. Надосадочную жидкость для определения гидрофильных экстрактов отделяли и разводили в ФСБ для дальнейшего анализа. В случае липофильных экстрактов надосадочную жидкость отделяли, а к осадку добавляли 6 мл смеси метанол-хлороформ-вода 2,0:1,0:0,8 (об./об./об.) и повторяли процедуру гомогенизации и центрифугирования. Надосадочные жидкости, полученные на обоих этапах экстракции, объединяли и добавляли 4,5 мл хлороформа и 4,5 мл деионизированной воды. Смесь тщательно перемешивали в течение 10 мин на вортексе (Elmi, Латвия) и центрифугировали при 7000g и температуре +4°C. Водный экстракт удаляли, а хлороформенный экстракт высушивали в потоке инертного газа. Экстракт липофильных компонентов перерастворяли в 1 мл 7% раствора метил-β-циклодекстрина в смеси ацетон-вода в объемном отношении 1:1 и инкубировали в течение 15 мин в ультразвуковой бане Sonogex (Bandelin, Германия) для получения стабильной эмульсии.

Липидные компоненты печени отделяли путем экстракции по методу Фолча [15]. Содержание холестерина в полученном экстракте определяли с использованием набора реагентов Cholesterol (BioSystems, Испания) на биохимическом анализаторе Stat Fax 3300 (Awareness Technology Inc., США).

Экспериментальное исследование с использованием лабораторных животных (крыс) выполнено в соответствии с Международными соглашениями о гуманном обращении с животными: EU Directive 86/609/ЕЕС от 24 ноября 1986г.; Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes от 22 сентября 2010 г.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ «Microsoft Excel» и «Statistica 6.0». Статистически значимыми по двустороннему критерию Стьюдента считали отличия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Адекватное развитие аллоксан-индуцированного диабета контролировали по нескольким показателям. Средний уровень глюкозы в крови животных 1-й группы варьировал в пределах от 6,32 до 9,74 мМ, что соответствует физиологической норме для крыс [16]. У животных 2-й и 3-й групп по истечении 1—3 нед. после воспроизведения диабета выявлена гипергликемия — уровень глюкозы в цельной крови был значительно выше (рис. 1). Статистический анализ «size effect» показал, что в начале эксперимента различия в уровне глюкозы в крови животных 2-й и 3-й групп незначительны

( $d_{Cohen} = 0,39$ ). Через 3 нед. они достигают среднего эффекта ( $d_{Cohen} = 0,50$ ) [17]. Этот факт можно расценивать как тенденцию к нормализации уровня глюкозы на фоне приема тыквенного пектина.

У животных, имевших стойкую гипергликемию на фоне аллоксанизации (2-я и 3-я группы) отмечалось значимое снижение массы тела по сравнению с животными контрольной группы, что является одним из клинических признаков развития сахарного диабета. Следует также отметить, что средняя концентрация инсулина в сыворотке крови у животных с сахарным диабетом ниже физиологической нормы для крыс (0,5—2,0 мкг/л), что обусловлено токсическим действием аллоксана на  $\beta$ -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы, продуцирующих инсулин.

После аутопсии у двух животных 2-й группы при анализе макроморфологии почек выявлены инфаркты в правых почках. Кроме того, у одного из животных этой группы отмечалось сморщивание правой почки. У животных 3-й группы не выявлено патологических изменений макроморфологии почек. Зарегистрированное увеличение индекса массы почек обусловлено

компенсаторной интенсификацией их работы в условиях стойкой гипергликемии и полиурии.

Обнаруженное увеличение массы головного мозга у животных 2-й и 3-й групп, вероятно, связано с отеком ткани. Утилизация глюкозы в нервных клетках без участия инсулина (полиоловый путь) приводит к накоплению в клетках сорбитола и притоку жидкости.

Значимым прогностическим маркером длительной гипергликемии является концентрация фруктозамина. Содержание фруктозамина в сыворотке крови животных с сахарным диабетом (2-я и 3-я группы) в среднем втрое выше ( $p < 0,001$ ) по сравнению с величиной данного показателя у животных в контрольной группе без диабета. После перорального введения тыквенного пектина показано статистически значимое снижение ( $p < 0,05$ ) сывороточной концентрации фруктозамина по сравнению со 2-й группой, что свидетельствует о гипогликемическом действии тыквенного пектина (рис. 2).

В результате проведенных экспериментов установлено, что в группах животных с сахарным диабетом (группы 2 ( $63,69 \pm 2,46$  мг/мл) и 3 ( $62,86 \pm 2,39$  мг/мл)) концентрация общего белка в сыворотке крови статистически значимо ниже по сравнению группой 1 ( $72,16 \pm 2,81$  мг/мл). Это обусловлено компенсаторным увеличением объема циркулирующей крови на фоне стойкой гипергликемии, а также переключением клеточного метаболизма на утилизацию аминокислот в качестве энергетических субстратов. При этом во всех исследованных группах животных сывороточный уровень общего белка соответствует физиологической норме для самцов крыс Wistar [16].

По результатам проведенных экспериментов между группами животных не выявлено значимых различий в уровне общего холестерина, триглицеридов и ЛПНП в сыворотке крови. В то же время содержание холестерина в печени у животных 2-й гр. ( $2,01 \pm 0,09$  мг/г) значимо ( $p < 0,05$ ) выше по сравнению с контрольной группой без диабета ( $1,74 \pm 0,08$  мг/г). При этом у животных 3-й гр. с аллоксан-индуцированным сахарным диабетом и введение тыквенного пектина отмечена нормализация уровня холестерина в печени ( $1,71 \pm 0,05$  мг/г) ( $p < 0,01$ ) по сравнению с животными 2-й гр. (контроль-диабет) до уровня данного показателя у животных без сахарного диабета — группа 1.

У животных с сахарным диабетом (группы 2 ( $56,29 \pm 5,18$  мг/дл) и 3 ( $52,74 \pm 4,28$  мг/дл)) показано статистически значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение сывороточной концентрации неатерогенной фракции липопротеидов — ЛПВП по сравнению с животными без сахарного диабета ( $41,02 \pm 2,19$  мг/дл). Увеличение концентрации ЛПВП, по-видимому, обусловлено увеличением потребности клеток в энергетических субстратах, в роли которых на фоне снижения способности кле-

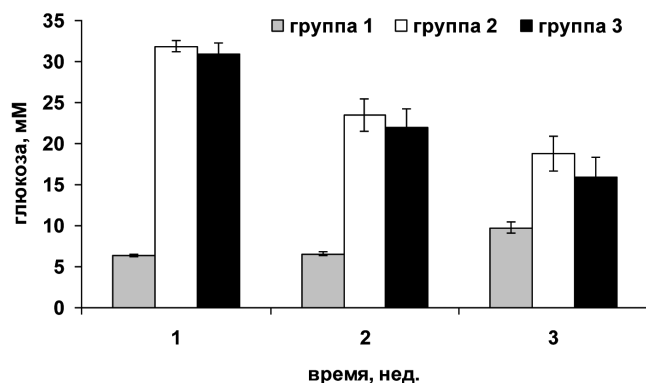


Рис. 1. Уровень глюкозы в крови животных: по оси абсцисс — время в неделях, по оси ординат — концентрация глюкозы в мМ.

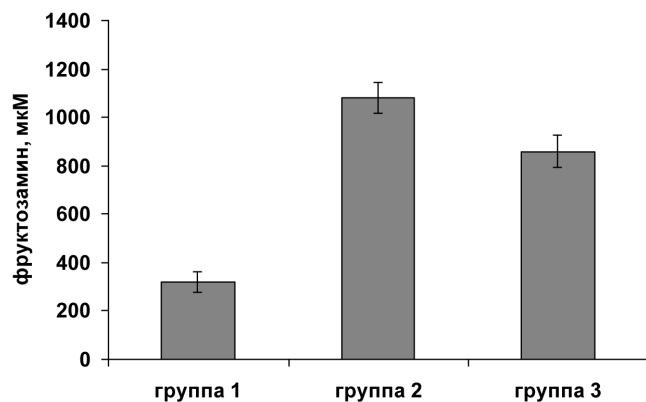


Рис. 2. Индексы массы почек и мозга у лабораторных животных. По оси ординат — индекс массы, %.

ток утилизировать глюкозу в условиях низкой концентрации инсулина выступают жирные кислоты.

Повышенный уровень НЭЖК, ассоциированный с ожирением, является одним из факторов, стимулирующих развитие резистентности к инсулину. Кроме того, НЭЖК оказывают прямое повреждающее действие на бета-клетки поджелудочной железы. У животных группы 3 ( $1,69 \pm 0,20$  мкМ) показано значимое ( $p < 0,05$ ) снижение сывороточной концентрации НЭЖК по сравнению с контрольными группами.

Поскольку гипергликемия, наряду с усилением потока НЭЖК в клетки, обусловленного гиперлипидемией, является специфическим для ожирения и сахарного диабета патогенетическим механизмом формирования окислительного стресса, было проведено тестирование антиоксидантной емкости (АОЕ) сыворотки крови и экстрактов липофильных и гидрофильных компонентов печени по отношению к пероксильному радикалу, а также определение в сыворотке крови содержания продуктов перекисного окисления липидов (ТБК-реактивных продуктов).

При анализе показателей антиоксидантного статуса между экспериментальными группами животных не выявлено значимых отличий по величинам антиоксидантной емкости сыворотки крови. В то же время по содержанию в сыворотке крови ТБК-реактивных продуктов исследованные экспериментальные группы животных имеют существенные отличия (таблица). Содержание ТБК — реактивных продуктов у животных с диабетом (2-я гр.) почти вдвое выше ( $p < 0,01$ ) по сравнению с величиной данного показателя у животных без диабета (группа 1). При этом у животных с сахарным диабетом, которым вводили пектин, показано статистически достоверное ( $p < 0,01$ ) снижение содержания ТБК-реактивных продуктов в сыворотке крови по сравнению с животными 2 гр. до уровня данного показателя у животных без сахарного диабета.

По содержанию липофильных антиоксидантов в печени контрольные группы животных с диабетом и без

диабета (группы 2 и 1) не имеют значимых различий (таблица). Однако у животных с аллоксан-индуцированным сахарным диабетом на фоне приема тыквенного пектина (группа 3) показано статистически значимое увеличение АОЕ экстракта липофильных компонентов печени по сравнению с животными 1-й группы (контроль без диабета). По результатам проведенных исследований показано, что по сравнению с контрольной группой животных без диабета (группа 1) содержание гидрофильных антиоксидантов в печени на фоне аллоксанизации значимо возросло как в контрольной группе с диабетом, так и у аллоксанизированных животных, получавших тыквенный пектин.

Таким образом, в ходе проведенного тестирования гипогликемических свойств тыквенного пектина у животных с аллоксан-индуцированным сахарным диабетом наблюдается:

- гипогликемический эффект, выражающийся в снижении сывороточной концентрации маркера длительной гипергликемии — фруктозамина по сравнению с контролем с сахарным диабетом;
- гипохолестеринемический эффект, выражающийся в статистически достоверном ( $p < 0,01$ ) снижении содержания холестерина в печени по сравнению с животными 2 группы (контроль-диабет) до уровня данного показателя у животных без сахарного диабета и статистически значимым снижением сывороточной концентрации НЭЖК по сравнению с контролем без сахарного диабета;
- антиоксидантный эффект, выражающийся в статистически значимом снижении содержания ТБК-реактивных продуктов в сыворотке крови по сравнению с контролем с сахарным диабетом до уровня данного показателя у животных без сахарного диабета.

Механизмы гипогликемического, гипохолестеринемического и антиоксидантного действия растворимых пищевых волокон до конца не ясны [18]. Однако недавно была показана корреляционная взаимосвязь между уровнем холестерина и триглицеридов в крови и печени крыс и содержанием желчных и короткоцепочеч-

Таблица

Показатели антиоксидантного статуса у лабораторных животных при тестировании гипогликемических свойств тыквенного пектина на модели аллоксан-индуцированного сахарного диабета

Показатель	Группа		
	1 (n = 10)	2 (n = 10)	3 (n = 11)
АОЕ сыворотки крови по отношению к пероксильному радикалу, мМ ТЭ	$10,15 \pm 0,38$	$10,00 \pm 0,39$	$10,16 \pm 0,27$
ТБК-реактивные продукт в сыворотке крови, мкМ экв. МДА	$2,39 \pm 0,49$	$4,73 \pm 0,49^*$	$2,84 \pm 0,25^\#$
АОЕ экстракта липофильных компонентов печени по отношению к пероксильному радикалу, мкмоль ТЭ/г	$0,87 \pm 0,10$	$1,06 \pm 0,10$	$1,32 \pm 0,17$
АОЕ экстракта гидрофильных компонентов печени по отношению к пероксильному радикалу, мкмоль ТЭ/г	$21,17 \pm 0,68$	$24,36 \pm 1,04$	$26,97 \pm 0,60$

**Примечание.** \* —  $p < 0,01$  по сравнению с группой 1, # —  $p < 0,01$  по сравнению с группой 2 по критерию Стьюдента

ных жирных кислот в толстом кишечнике на фоне приема пектина [4]. При этом профили и содержание как желчных кислот, так и короткоцепочечных жирных кислот (продуктов вторичного метаболизма микрофлоры ЖКТ) зависели от состава микрофлоры кишечника. К примеру, содержание таких короткоцепочечных жирных кислот как уксусная, пропионовая, масляная и капроновая имело положительную корреляцию с численностью *Bifidobacterium*, которая, в свою очередь, возрастала в присутствии пектина. Предполагают, что корма, в состав которых входит пектин, имеют вязкую консистенцию, благодаря чему в ЖКТ происходит связывание желчных кислот, препятствующее их абсорбции и тем самым приводящее к снижению холестерина в крови и печени. Чем выше степень метоксилирования, тем выше вязкость пектинов, тем выше их гиполипидемический эффект. Также предполагают, что вязкость влияет на процессы ферментации микробиоты в ЖКТ и как следствие на состав ее вторичных метаболитов [19]. Исследованный в данной работе пектин из тыквы является высокометоксилированным и имеет самое высокое значение динамической вязкости, по сравнению с цитрусовыми и яблочными пектинами [8].

Облегченную диффузию глюкозы внутрь клеток, чувствительных к инсулину (адипоциты, миоциты и кардиомиоциты), осуществляет транспортер глюкозы 4 типа (ГЛЮТ-4) [20]. В условиях окислительного стресса нарушается транскрипция генов, кодирующих ГЛЮТ-4. Однако было показано, что некоторые жирные кислоты стимулируют экспрессию активируемого пероксисомными пролифераторами рецептора гамма (PPAR), который, в свою очередь, увеличивает уровень ГЛЮТ-4 [21]. В отличие от нерастворимых пищевых волокон пектин и другие растворимые пищевые волокна подвергаются расщеплению под действием микрофлоры толстого кишечника, приводящего к образованию короткоцепочечных жирных кислот. Последние оказывают положительное влияние на липидный профиль в крови, а также участвуют в регуляции процессов дифференцировки и апоптоза в клетках эпителия толстой кишки, поддерживая тем самым его барьерную функцию.

## References

- Holck J., Hotchkiss Jr. A.T., Meyer A.S., Mikkelsen J.D. and Rastall R.A. Production and Bioactivity of Pectic Oligosaccharides from Fruit and Vegetable Biomass. In: *Food Oligosaccharides: Production, Analysis and Bioactivity*. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd; 2014: 76-87.
- Babbar N., Dejonghe W., Gatti M., Sforza S., Kathy E. Pectic oligosaccharides from agricultural by-products: production, characterization and health benefits. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2016; 36(4): 594-606.

- Parkar S.G., Redgate E.L., Wibisono R., Luo X., E.T.H. Koh, Schroder R. Gut health benefits of kiwifruit pectins: Comparison with commercial functional polysaccharides. *Journal of Functional Foods*. 2010; 2(3): 210-18.

- Ghaffarzadegan T., Marungruang N., Fak F., Nyman M. Molecular properties of guar gum and pectin modify cecal bile acids, microbiota, and plasma lipopolysaccharide-binding protein in rats. *PLoS ONE*. 2016; 1-18.

- Rubio-Senent F., Rodriguez-Gutierrez G., Lama-Munoz A., Fernandez-Bolanos J. Pectin extracted from thermally treated olive oil by-products: Characterization, physico-chemical properties, *in vitro* bile acid and glucose binding. *Food Hydrocolloids*. 2015; 43: 311-21.

- Nosa ova G., Prisenznakova , Kosalova Z., Ebringero-va A., Hromadkova Z. Suppressing effect of pectic polysaccharides from *Cucurbita pepo* L. var. *Syriaca* on citric acid-induced cough reflex in guinea pigs. *Fitoterapia*. 2011; 82(3): 357-64.

- Holck J., Hjerno K., Lorentzen A., K.L. Vignsngs, Hemmingsen L., Licht T.R., Mikkelsen J.D., Meyer A.S. Tailored enzymatic production of oligosaccharides from sugar beet pectin and evidence of differential effects of a single DP chain length difference on human faecal microbiota composition after *in vitro* fermentation. *Process Biochemistry*. 2011; 46(5): 1039-49.

- Lisickaya K.V., Torkova A.A., Nikolaev I.V., Fedorova T.V., Mihaleva M.A., Koroleva O.V. Comparative analysis of the antioxidant properties of pectins from different plant raw materials on model cellular systems. *Pishhevaia promyshlennost'*. 2012; 12: 64-7. (in Russian)

- Etuk E.U. Animal models for studying diabetes mellitus. *Agriculture Biol. J. North Am.* 2010; 1: 130-4.

- Rohilla A. Alloxan induced diabetes: mechanisms and effects. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.* 2012; 3: 819-23.

- Gomathy R., Vijayalekshmi N.R., Kurup P.A. Hypoglycemic action of the pectin present in the juice of the inflorescence stalk of plantain (*Musa sapientum*) — Mechanism of action. *J. Biosci.* 1990; 15: 297-303.

- Barbalho S.M., de Souza M.S.S., de Paula e Silva J.C., Mendes C.G., de Oliveira G.A., Costa T., Farinazi-Machado F.M.V. Yellow passion fruit rind (*Passiflora edulis*): an industrial waste or an adjuvant in the maintenance of glycemia and prevention of dyslipidemia? *J. Diabetes Res. & Clin. Metabol.* 2012; 1: 1-4.

- Mihara M., Uchiyama M., Fukuzawa K. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl<sub>4</sub> intoxication, and vitamin E deficiency. *Biochemical Medicine*. 1980; 23(3): 302-11.

- Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior R.L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* 2001; 49: 4619-26.

- Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 1957; 226: 497-509.

- Zhang Z.-P., Tian Y.-H., Li R., Cheng X.-Q., Guo S.-M., Zhang J.-X., Wang J.-J., Hu L. The comparison of the normal blood biochemical values of Wistar rats with different age and sex. *Asian J. Drug Metabol. Pharmacokinet.* 2004; 4: 215.

- Cohen, B. *Explaining psychological statistics (3rd ed.)*. New York: John Wiley & Sons; 2008.

- Papathanasopoulos A., Camilleri M. Dietary Fiber Supplements: Effects in Obesity and Metabolic Syndrome and Relationship to Gastrointestinal Functions. *Gastroenterology*. 2010; 138: 65-72.

19. Tin'kov A.A., Gatiatulina E.R., Popova E.V., Polyakova V.S., Skal'naya A.A., Agletdinov E.F., Nikonorov A.A., Radysh I.V., Karganov M.Yu., Skal'nyj A.V. Influence of adipogenic diet at an early age on the content of trace elements in the tissues of rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2016; 60(4): 79-85. (in Russian)

20. Kuz'menko D.I., Udincev S.N., Kliment'eva T.K., Serebrov V.Yu. Oxidative stress of adipose tissue as the pri-

mary link in the pathogenesis of insulin resistance. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2016; 62(1): 14-21. (in Russian)

21. Park K.S., Ciaraldi T.P., Lindgren K. et al. Troglitazone effects on gene expression in human skeletal muscle of type II diabetes involve up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998; 83: 2830-5.

#### Сведения об авторах:

*Федорова Татьяна Васильевна*, канд. техн. наук, и.о. зав. лаб. молекулярных основ биотрансформаций Института биохимии им. А.Н. Баха, e-mail: fedorova\_tv@mail.ru;

*Торкова Анна Алексеевна*, мл. науч. сотр. лаб. молекулярных основ биотрансформаций Института биохимии им. А.Н. Баха, e-mail: anna\_torkova@mail;

*Лисицкая Ксения Валерьевна*, канд. биол. наук, лаб. молекулярных основ биотрансформаций Института биохимии им. А.Н. Баха, e-mail: lisksenia@mail.ru;

*Алчинова Ирина Борисовна*, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. физико-химической и экологической патофизиологии ФГБНУ НИИОПП.