

УДК 616.008.6:582.912.4

А. Л. ЗАГАЙКО, О. І. ЧУМАК, В. П. ФИЛИМОНЕНКО, О. М. КОШЕВОЙ

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СУХИХ ЕКСТРАКТІВ З ЛИСТЯ БРУСНИЦІ І ЧОРНИЦІ З ДОДАВАННЯМ L-АРГІНІНУ НА РОЗВИТОК МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ II ТИПУ

Досліджені фармакологічні властивості сухих екстрактів брусниці та чорниці з додаванням L-аргініну за умов експериментального метаболічного синдрому у щурів, індукованого високофруктозною дієтою. Виявлені більш виразні антиатерогенні властивості екстрактів чорниці порівняно з екстрактом брусниці. Зроблені висновки щодо перспективи застосування екстрактів досліджених рослин в якості потенційних субстратів для лікування та профілактики метаболічного синдрому.

Ключові слова: брусниця (*Vaccinium vitis-idaea* L.); чорниця (*Vaccinium myrtillus* L.); метаболічний синдром; L-аргінін; цукровий діабет II типу

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) є складним системним захворюванням, яке виникає внаслідок дефіциту інсуліну, з порушенням вуглеводного обміну, зокрема, пригнічується використання глюкози тканинами. Метаболічний синдром (МС), або синдром інсулінорезистентності, являє собою комплекс гормональних та метаболічних порушень: абдомінальне ожиріння, гіпертригліцеридемія, знижений рівень холестерину ліпопротеїнів високої густини та гіпертензія, які збільшують ризик серцево-судинних захворювань удвічі, а розвиток ЦД II типу – у п'ять разів порівняно з особами без ознак даного синдрому. Пандемічний характер розповсюдженості ЦД II типу, який спостерігається у 20-30 % дорослого населення в більшості країн світу, перш за все, зумовлений зниженням фізичного навантаження та висококалорійною дієтою.

В останні роки значна увага приділяється дослідженню ролі оксидативного стресу в індукції різних складових МС, зокрема інсулінорезистентності, ендотеліальної дисфункції, протизапального і протромботичного стану. Так, у патогенезі ЦД II типу важливу роль відіграють порушення функціонування ендотелію судин. Особливий інтерес викликає Нітрогену оксид (NO) – сполука, що бере участь у регуляції тонусу судин, інгібує агрегацію тромбоцитів, бере участь у регуляції мікроциркуляції [25]. Джерелом утворен-

ня NO є L-аргінін, реакція відбувається за допомогою ферментів NO-синтаз [7, 8, 14].

На теперішній час оксидативний стрес розглядають як основний чинник, що поєднує інсулінорезистентність із дисфункцією панкреатичних β-клітин та ендотелію, що створює передумови для застосування антиоксидантів з метою профілактики та лікування метаболічного синдрому та ЦД II типу [10, 13, 18, 21].

У зв'язку з цим одним із перспективних напрямків фармакотерапії ЦД II типу може бути застосування антиоксидантів рослинного походження, зокрема, поліфенолів, яким притаманна висока ефективність у поєднанні з відсутністю виразних побічних ефектів [19, 24].

Так, виявлено наявність кореляції між споживанням продуктів із високим вмістом флавоноїдів та зниженням ризику серцево-судинних захворювань і маніфестації ЦД II типу [9, 11, 12]. Експериментальні дослідження свідчать про позитивний вплив флавоноїдів на такі чинники ризику атерогенезу, як протромботичний стан, підвищений рівень загального холестерину та знижена концентрація холестерину ліпопротеїнів високої густини [22].

Джерелом флавоноїдів можуть бути такі рослини як чорниця та брусниця, хоча проведені дослідження щодо фармакологічної активності переважно лише їх плодів [1, 2, 3], тому нас зацікавило більш детальне з'ясування фармакологічної активності цих рослин.

Зокрема, наявні літературні дані щодо ефективного використання плодів чорниці у вигляді олії при

© Загайко А. Л., Чумак О. І., Філімоненко В. П.
Кошевой О. М., 2016

Таблиця

**ПОКАЗНИКИ ВУГЛЕВОДНОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНУ В УМОВАХ ВИСОКОКАЛОРИЙНОЇ ДІЄТИ
ТА ПРИ ВВЕДЕННІ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЕКСТРАКТІВ (M ± m, n = 6)**

Інтакт	Дієта	Дієта + брусниця + аргінін	Дієта + чорниця + аргінін
Глюкоза, ммоль/л			
4,7 ± 0,1	14,5 ± 0,2*	8,2 ± 0,4**	7,4 ± 0,3**
Інсулін, пг/мл			
1290 ± 34	2920 ± 41*	1987 ± 45**	1618 ± 41**
ТАГ, ммоль/л			
0,84 ± 0,06	2,59 ± 0,11*	1,65 ± 0,08**	1,35 ± 0,05**
ВЖК, ммоль/л			
0,40 ± 0,05	0,69 ± 0,04*	0,54 ± 0,03**	0,50 ± 0,02**
ЛНГ-ХС, ммоль/л			
1,36 ± 0,04	0,82 ± 0,04*	1,14 ± 0,06**	1,12 ± 0,05**
ЛВГ-ХС, ммоль/л			
2,53 ± 0,05	3,73 ± 0,07*	3,16 ± 0,06**	3,07 ± 0,05**

Примітка: * – достовірно відносно інтактної групи (p ≤ 0,05); # – достовірно відносно групи паказників групи тварин, які утримувались на високофруктозній дієті (p ≤ 0,05).

зниженні активності тканинного тромбoplastину мозку та гіперкоагуляційного потенціалу, що лежать в основі внутрішньосудинного тромбоутворення і виникнення мозкових інсультів [6]. Доведена біоактивність антиоксидантів флавоноїдів екстрактів чорниці та брусниці в молекулярних і клітинних токсикологічних дослідженнях [15, 23]. У листі чорниці найбільш важливими з фармакологічної точки зору є антоціанідини [16, 20], крім того, встановлено гіпоглікемічний ефект екстракту листя чорниці, що проявляється завдяки наявності глікозиду неоміртиліну, який знижує вміст цукру крові при експериментальному діабеті у тварин [4].

У зв'язку з недостатньою кількістю експериментальних даних стосовно фармакологічних ефектів листя брусниці і чорниці існує необхідність проведення дослідження впливу екстрактів з листя вказаних рослин для з'ясування перспективи їх використання як потенційних засобів для профілактики та лікування ЦД II типу.

Метою роботи було дослідження особливостей впливу субстанцій сухих екстрактів з листя брусниці і чорниці з додаванням аргініну на розвиток метаболічних порушень за умов експериментального ЦД II типу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У роботі було використано щурів популяції Wis-tar із віварію НФаУ (м. Харків). Тварин утримували в стандартних умовах віварію при природному освітленні та харчовому режимі, рекомендованому для даного виду тварин. Дослідження проводились відповідно до Національних загальних етичних принципів експериментів на тваринах.

Тварин поділяли на групи: 1 – інтактні тварини; 2 – тварини, яких утримували на високофруктозній дієті для розвитку СД II типу. Тварин утримували на дієті з високим рівнем фруктози (60 г на 100 г дієти).

Діагноз діабету ставили після вимірювання рівня глюкози натщесерце, який складав не менше 14 ммоль/л у крові, зібраній з хвостової вени щурів; 3 – тварини, яких утримували на високофруктозній дієті для розвитку СД II типу (дієта) та які отримували сухі екстракти брусниці з додаванням аргініну; 4 – тварини, яких утримували на високофруктозній дієті для розвитку СД II типу (дієта) та які отримували сухі екстракти чорниці з додаванням L-аргініну.

Сухі екстракти листя чорниці (*Vaccinium myrtillus L.*) та брусниці (*Vaccinium vitis-idaea L.*) використовували перорально у дозі 15 мг/кг з 30 доби високофруктозної дієти, а L-аргінін вводили внутрішньошлунково одночасно з досліджуваними екстрактами у дозі 6 мг/кг маси тіла тварин на протязі 30 діб. Тварини знаходились на дієті впродовж 60 діб.

Тварин декапітували під хлоралозо-уретановим наркозом, біохімічні показники визначали у сироватці крові щурів.

Вміст глюкози визначали глюкооксидазним методом, вміст інсуліну – радіоімунологічним методом, вміст вільних жирних кислот (ВЖК) – за реакцією з дифенілкарбазидом, вміст триацилгліцеролів (ТАГ) – за реакцією з фенілгідразином, використовуючи стандартні аналітичні набори. Концентрацію холестеролу β-ліпопротеїнів (ЛНГ-ХС) та холестеролу ліпопротеїнів високої густини (ЛВГ-ХС) у сироватці крові визначали холестеролоксидазним методом з осадженням апо-В-вмісних ліпопротеїнів солями двовалентних металів. Отримані дані обробляли статистично з використанням програми STATISTICA (Statsoft Incorporation, USA), версія 6.0. Достовірність відмінності між групами оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з отриманих нами даних (таблиця), тривале вживання дієти з високим вмістом фруктози

призводить до гіперглікемії та гіперінсулінемії, що характеризує розвиток ЦД II типу. Так, спостерігається трикратне підвищення вмісту глюкози у сироватці крові та виражена гіперінсулінемія, яка може пояснюватись компенсаторною реакцією на гіперглікемію, що може свідчити про нечутливість клітин до інсуліну, тобто про розвиток інсулінорезистентності внаслідок порушення механізму взаємодії інсуліну з клітинами тканини. Цей стан може бути пов'язаний зі зниженням кількості рецепторів клітин, а також зниженням активності тирозинкінази, що призводить до порушення функціонування β -субодиниці рецептора до інсуліну, його взаємодії з IRS-1 та p85-субодиницею фосфатидилінозитол-3-кінази.

Відомо, що важливою патогенетичною ланкою ЦД II типу є порушення ліпідного обміну.

Як свідчать отримані нами дані (таблиця), у тварин за модельної патології підвищувався рівень ТАГ у сироватці крові, що може бути наслідком активації ліполізу в жировій тканині та ресинтезу ТАГ в печінці, та розглядається як ключовий фактор формування атерогенної дисліпідемії, характерної для ЦД II типу. На користь цього свідчить відмічене нами збільшення вмісту ВЖК (таблиця). Розвиток тригліцеридемії у сироватці крові може бути пов'язаний зі зниженням чутливості до інсуліну у печінці та з активацією гормон-чутливої ліпази. Крім того, підвищення вмісту ВЖК, які є субстратами для утворення ТАГ, може призводити до дисбалансу ліпопротеїнів окремих класів.

Вважається, що атерогенні зміни у крові відбуваються в результаті дисбалансу ЛП, що виявляється у перевазі фракції ліпопротеїнів низької та дуже низької густини (ЛНГ + ЛДНГ) над антиатерогенною фракцією ліпопротеїнів високої густини (ЛВГ). Крім того, особливостями дисліпідемії при ЦД II типу є окисні модифікації ліпопротеїнів низької густини (ЛНГ), що додає їм цитотоксичності та афінності до скавенджер-рецепторів макрофагів судинної стінки та може розглядатися як виразний проатерогенний чинник.

Як свідчать наші дані (таблиця), за модельної патології відбувається викид до крові головним чином ЛНГ (у вигляді ЛДНГ), що може бути компенсаторною відповіддю, спрямованою на зменшення вмісту ВЖК, та може пояснюватись підвищенням синтезом ендогенних ЛП та їх зниженою утилізацією. Причому рівень антиатерогенних ЛВГ знижується, що, ймовірно, пов'язано із порушенням ремоделювання АпоВ-ЛП.

Таким чином, особливості ліпідного спектра при ЦД II типу характеризуються ліпідною тріадою, яка включає збільшення концентрації ТАГ, зниження рівня холестеролу ЛВГ та збільшення рівня холестеролу ЛНГ. Це є наслідком того, що в результаті інсулінорезистентності та недостатньої секреції інсуліну порушується постпрандіальна регуляція рівня ліпідів, підвищується рівень ВЖК у сироватці крові.

Згідно з отриманими даними (таблиця) додавання сухого екстракту листя брусниці та чорниці до високофруктозної дієти у поєднанні з L-аргініном знижують гіперглікемію та гіперінсулінемію, тригліцеридемію. Відомо, що L-аргінін є джерелом утворення NO, нормально функціонуючий ендотелій відрізняє активне утворення NO за допомогою NO-синтази, що необхідно для підтримання тону судин, та є фактором запобігання прогресуванню ЦД II типу, що також може пояснювати факт нормалізації досліджуваних показників. Крім того, тривале вживання фруктози також спричиняє індукцію оксидативного стресу за рахунок посилення процесів ліпідної пероксидації (активації поліольного шляху) та послаблення антиоксидантної системи захисту.

Треба зауважити, що при порівнянні фармакологічної дії екстрактів листя як брусниці та чорниці з додаванням аргініну вплив останнього на показники рівня глюкози та інсуліну, а також показники ліпідного обміну є дещо виразнішими (таблиця). Що стосується вмісту фракцій ЛНГ-ХС та ЛВГ-ХС, то і в цьому випадку спостерігається нормалізація показників фракцій ліпопротеїнів холестеролу в умовах експерименту.

ВИСНОВКИ

Таким чином, у результаті проведеного дослідження встановлено, що екстракти як брусниці, так і чорниці гальмують метаболічні розлади, притаманні ЦД II типу, індукованого високофруктозною дієтою, зокрема, знижують тригліцеридемію, що може чинити позитивний вплив на функціональний стан серцево-судинної системи. При цьому екстракт чорниці проявляє більш істотний вплив на досліджені показники. Виявлені властивості екстрактів брусниці та чорниці обґрунтовують перспективність їх застосування як потенційних засобів у комплексній профілактиці та лікуванні метаболічного синдрому та ЦД II типу різного генезу.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Воронов Г. Г. Лекарственные средства на основе черники в современной офтальмологии / [Г. Г. Воронов, Л. И. Покачайло, Д. А. Рождественский и др.] // Рецент. – 2007. – № 2 (52). – С. 124-131.
2. Зворська О. З. Біологічно активні речовини чорниці звичайної як джерела нових лікарських засобів / О. З. Зворська, Л. В. Бензель // Мед. хімія. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 48-50.
3. Комісаренко М. А. Дослідження фенольних сполук спиртового екстракту з листя брусниці звичайної / М. А. Комісаренко, А. С. Гейдерих, А. М. Ковальова, О. М. Кошовий // Укр. журн. клін. та лабораторної медицини. – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 24-26.

4. Марсов Н. Г. Изучение экстрактов валерианы, черники и их смеси на биохимические показатели крыс на фоне иммобилизационного стресса / [Н. Г. Марсов, П. Ю. Шкороботько, И. М. Беной и др.] // Запорожский мед. журн. – 2006. – № 4. – С. 53-57.
5. Охрименко Л. П. Сравнительное исследование толокнянки, брусники и близких к ним видов, произрастающих в республике Саха (Якутия) / Л. П. Охрименко, Г. И. Калинин, С. Е. Дмитрук // Химия растит. сырья. – 2005. – № 1. – С. 31-35.
6. Погоріла Л. І. Вплив олії чорниці при курсовому застосуванні протягом двох місяців на активність тканинного тромбопластину мозку в експерименті / Л. І. Погоріла // Фармац. журн. – 2005. – № 1. – С. 88-91.
7. Ференц І. В. Вплив агматину на систему L-аргінін-NO в лейкоцитах периферійної крові щурів за умов експериментального цукрового діабету / [І. В. Ференц, М. Ю. Люта, І. В. Бродяк та ін.] // Мед. хімія. – 2011. – Т. 13, № 4. – С. 26-28.
8. Barбора Т. С. L-Arginine enhances glucose and lipid metabolism in rat L6 myotubes via NO-synthase pathway / T. C. Barбора, L. Q. Jiang, M. T. Nuness // Metabolism Clinical and Experimental. – 2013. – № 2. – P. 79-89.
9. Grassi D. Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate / D. Grassi // J. Nutrients. – 2008. – Vol. 138. – P. 1671-1676.
10. Higashi J. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases / J. Higashi, K. Noma, M. Joshizumi // J. Circul. – 2009. – Vol. 73. – P. 411-418.
11. Liu X. Glucosidase inhibitory activity and antioxidant activity of flavonoid compound and triterpenoid compound from *Agrimonia Pilosa Ledeb* / X. Liu // BMC Complementary and alternative medicine. – 2014. – Vol. 14, № 12. – P. 1-10.
12. Liu X. Glucosidase inhibitory activity and antioxidant activity of flavonoid compound and triterpenoid compound from *Agrimonia Pilosa Ledeb* / X. Liu // BMC Complementary and alternative medicine. – 2014. – Vol. 14, № 12. – P. 1-10.
13. Malfitano C. Diabetic hyperglycemia attenuates sympathetic dysfunction and oxidative stress after myocardial infarction in rats / [C. Malfitano, K. A. Barboza, C. Mostarda et al.] // Cardiovascular Diabetol. – 2014. – Vol. 13, № 1. – P. 131-140.
14. Mori M. Arginine metabolis enzymes, nitric oxide and infection / M. Mori, T. Gotoh // J. Nutr. – 2004. – Vol. 134, № 10. – P. 2820-2825.
15. Mority R. Quality of highbush Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) and bilbery (*Vaccinium myrtillus* L.) jam / R. Mority, M. Karolina, R. Hans // Растит. ресурсы. – 2006. – № 11. – С. 8.
16. Roochard D. E. Blueberry polyphenol-enriched soybean flour reduced hyperglycemia, body weight gain and serum cholesterol in mice / D. E. Roochard, P. Kuhn, L. E. Rojo // Pharmacol. Res. – 2012. – Vol. 68, № 1. – P. 59-67.
17. XV International symposium on atherosclerosis: High-Density Lipoproteins and Atherosclerosis, June 14-18, 2009. – Boston, MA, USA, 2009. – 25 p.
18. Sanchez-Aranguren L. C. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress/ L. C. Sanchez-Aranguren, C. E. Prada, C. E. Riano-Medina // Front. Physiol. – 2014. – Vol. 372, № 5. – P. 1437-1442.
19. Singab A. N. Medical plant with potential antidiabetic activity and their assessment / A. N. Singab, F. S. Joussef, M. L. Ashour // Medical and Aromatic Plant. – 2014. – Vol. 3, № 1. – P. 2-12.
20. Sola D. Effect of anthocyanosides on visual performances at low illumination / D. Sola, M. Ronaldo // Minerva Oftalmol. – 1979. – Vol. 21. – P. 283-285.
21. Taifeng Z. Iron, oxidative stress and pancreatic diabetes / Z. Taifeng, H. Huijun, J. Zhenun // Nutrients. – 2014. – № 6. – P. 3968-3980.
22. Tsai H. J. Effect of a proanthocyanidin-rich extract from longan flower on markers of metabolic syndrome in fructose-fed rats / H. J. Tsai, L. J. Wu, I. S. Hwang // J. Agric. Food Chem. – 2008. – Vol. 56, № 22. – P. 11018-11024.
23. Walker E. Растительные проантоцианидиновые экстракты / E. Walker // Растит. ресурсы. – 2005. – № 1. – С. 141.
24. Wedick N. M. Dietary flavonoid intakes and risk of type 2 diabetes in US men and women / [N. M. Wedick, A. Pan, A. Cassidy et al.] // The American J. of Clinical Nutrition. – 2012. – Vol. 95, № 4. – P. 925-933.
25. Wu G. Nitric oxide and vascular insulin resistance / G. Wu, C. J. Meininger // Biofactors. – 2009. – Vol. 35, № 1. – P. 21-27.

УДК 616.008.6:582.912.4**А. Л. Загайко, Е. И. Чумак, В. П. Филимоненко, О. М. Кошевой****ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ БРУСНИКИ И ЧЕРНИКИ С ДОБАВЛЕНИЕМ L-АРГИНИНА НА РАЗВИТИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА**

Исследованы фармакологические свойства сухих экстрактов брусники и черники с добавлением L-аргинина в условиях экспериментального метаболического синдрома у крыс, индуцированного высокофруктозной диетой. Выявлены более выраженные антиатерогенные свойства экстрактов черники по сравнению с экстрактом брусники. Сделаны выводы о перспективе применения экстрактов исследованных растений в качестве потенциальных субстратов для лечения и профилактики метаболического синдрома.

Ключевые слова: брусника (*Vaccinium vitis-idaea L.*); черника (*Vaccinium myrtillus L.*); метаболический синдром; L-аргинин; сахарный диабет II типа

UDC 616.008.6:582.912.4**A. L. Zagayko, O. I. Chumak, V. P. Filimonenko, O. M. Koshevoy****INVESTIGATION OF THE EFFECT OF DRY EXTRACTS FROM THE LEAVES OF COWBERRY AND BILBERRY ADDING L-ARGININE ON METABOLIC PARAMETERS IN EXPERIMENTAL DIABETES TYPE II**

Investigated the pharmacological properties of dry extract of cranberries and blueberries with the addition of L-arginine in experimental metabolic syndrome in rats induced vsokoprotocnah diet. Revealed more pronounced antiatherogenic properties of extracts of bilberry, compared with an extract of bilberry. Conclusions prospects for the use of extracts of the investigated plants as potential substrates for the treatment and prevention of metabolic syndrome.

Key words: *Vaccinium vitis-idaea L.*; *Vaccinium myrtillus L.*; metabolic syndrome; L-arginine; diabetes mellitus type II

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 22.04.2016 р.