

УДК 577.126:57.042

А.Л. ЗАГАЙКО, С.В. ЗАЙКА, О.А. КРАСИЛЬНИКОВА, І.В. СЕНЮК

Національний фармацевтичний університет

ВИВЧЕННЯ ЛІПОТРОПНОЇ ДІЇ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ ЕКСТРАКТІВ З НАСІННЯ ВИНОГРАДУ НА МОДЕЛІ ГОСТРОГО ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ

Згідно з сучасними уявленнями, найбільш значущим метаболічним захворюванням печінки є стеатогепатит, у патогенезі якого – накопичення ліпідів у гепатоцитах і посилення процесів вільнорадикального окиснення. Для корекції цієї патології широко використовують гепатопротекторні препарати рослинного походження, які містять біофлавоноїди. В роботі вивчали дію поліфенольних екстрактів з насіння винограду на моделі хронічного ураження печінки з метою з'ясування їх ліпотропних властивостей. Показано, що досліджувані поліфенольні екстракти в умовах хронічного тетрахлорметанового гепатиту чинять виражену ліпотропну дію, яка проявилася зменшенням виразності жирового гепатозу, значним зменшенням проявів гіперліпідемії. Останнє свідчить про здатність поліфенольних комплексів винограду значно поліпшувати метаболічні процеси в печінці при тривалому застосуванні.

Ключові слова: поліфеноли; тетрахлоретан; фосфоліпіди; триацилгліцерини

ВСТУП

Печінка – головний орган метаболізму в організмі людини, що виконує більше 70 функцій. Згідно з сучасними уявленнями найбільш значущими метаболічними захворюваннями печінки поряд з алкогольними ураженнями є неалкогольний стеатоз і неалкогольний стеатогепатит, у патогенезі яких провідна роль належить накопиченню ліпідів у гепатоциті і посиленню процесів вільнорадикального окиснення з накопиченням продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) і розвитком некрозів печінкових клітин [8, 10]. Одночасно відзначається змінами вмісту в плазмі крові ліпідів і ліпопротеїнів. Для лікування жирового переродження печінки використовуються гепатопротектори – група лікарських засобів природного (рослинного та тваринного) і синтетичного походження з різними механізмами дії, які підвищують стійкість гепатоцитів до патологічних впливів, підсилюють знешкоджуючу функцію гепатоцитів, сприяють відновленню порушених функцій печінкових клітин [7]. Тому пошук нових гепатопротекторів є надзвичайно актуальною проблемою. Широкий спектр фармакологічних ефектів демонструють рослинні поліфеноли. Багатим джерелом рос-

линних поліфенолів є насіння винограду культурного. Для поліфенолів винограду показані антиоксидантна, мембраностабілізуюча, імуномодуюча, протизапальна активність [14]. Метою цієї роботи було вивчення ліпотропної активності поліфенольних екстрактів з насіння Винограду культурного сортів «Каберне» та «Ркацителі» та їх впливу на стан метаболізму ліпідів у печінці та сироватці крові щурів в умовах хронічного токсичного ураження печінки, спричиненого двомісячним введенням тетрахлорметану.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експерименти проводили на самцях щурів масою 180-220 г, що утримувалися на стандартному раціоні виварію. Хронічне ураження печінки у щурів моделювали шляхом підшкірного введення 50% олійного розчину тетрахлорметану в дозі 4 мл/кг 2 рази на тиждень протягом 60 діб [6].

Тварини були розділені на п'ять дослідних груп: 1 група – інтактний контроль; 2 група – контрольна патологія; 3 група – на тлі тетрахлорметанового ураження печінки вводили референс-препарат «Метіонін» у дозі 2 г/кг, 4 група – поряд з тетрахлорметаном вводили поліфенольний екстракт «Ркацителі» в дозі 0,5мл/кг; 5 група – поряд з тетрахлорметаном вводили поліфенольний екстракт «Каберне». Досліджувані поліфенольні екстракти та препарат порівняння

© А.Л. Загайко, С.В. Зайка, О.А. Красильнікова, І.В. Сенюк, 2012

вводили щодоби протягом усього терміну введення отрути. Після закінчення експерименту тварин декапітували, збирали кров для отримання сироватки. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином. Гомогенат готували у співвідношенні 1 частина печінки : 3 частини 0,1 М Трис-НСІ буфера. У печінці та сироватці крові визначали вміст загальних ліпідів (ЗЛ), триацилгліцеринів (ТГ), вільних жирних кислот (ВЖК), холестерину (ХС) та загальний вміст фосфоліпідів (ЗФЛ) за допомогою стандартних наборів реактивів фірми «Seltiel» (Італія). Статистичну обробку даних проводили з використанням варіаційної статистики (ANOVA). $P < 0,05$ – статистично достовірні результати.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами було встановлено, що в умовах хронічного ураження печінки спостерігається порушення обміну ліпідів як у самій печінці, так і у сироватці крові. Так, у тканині печінки зростає вміст загальних ліпідів на 52% за рахунок підвищення вмісту ТГ, ХС та деякого збільшення рівня ВЖК у клітинах печінки на 115, 83 та 67%, відповідно. При цьому спостерігається достовірне зменшення вмісту ЗФЛ у тканині печінки на 41%. Оскільки головним фосфоліпідом клітин печінки є фосфатидилхолін, який входить до складу плазматичної та внутрішньоклітинних мембран клітин, зниження вмісту фосфоліпідів може свідчити про ушкодження мембран, яке може призводити до порушення цілісності клітин та розвитку некротичних процесів. Ці припущення підтверджуються тим, що у сироватці крові в умовах хронічного введення тетрахлорметану значно, у 2-3 рази, підвищується активність ферментів-маркерів цитолізу гепатоцитів: аланінамінотрансферази, лужної фосфатази та γ -глутамілтранспептидази [5]. Причиною зменшення рівня ЗФЛ може бути гальмування їх утворення за рахунок посилення синтезу ТГ, яке спостерігалось, або посилення їх гідролізу за участю фосфоліпаз [12, 13], про що свідчить підвищення вмісту ВЖК. Останні є головним субстратом ПОЛ. Це може бути однією з причин підвищення ПОЛ за цих експериментальних умов [4].

Фармакологічна корекція цього стану спрямована, перш за все, на нормалізацію обміну ліпідів і ХС в організмі, стимуляцію мобілізації жиру з печінки і його окиснення, посилення синтезу фосфоліпідів у клітинах печінки. У якості препарату порівняння був використаний ліпотропний препарат метіонін. Фармакологічний препарат метіонін демонструє ліпотропну

активність, підвищує синтез холіну, лецитину та інших фосфоліпідів, в деякій мірі сприяє зниженню вмісту холестерину в крові і нормалізації співвідношення фосфоліпідів/холестерин, зменшенню відкладення нейтрального жиру в печінці і поліпшенню функції печінки.

Проте слід зазначити, що важливим компонентом ураження печінки та розвитку стеатозу є збільшення кількості активних форм кисню та посилення ПОЛ [10]. Окиснювальний стрес ініціює порушення, пов'язані з кровопостачанням печінки (пошкодження ендотелію судин і синусоїдів печінки зі зміною вироблення оксиду нітрогену, погіршення реологічних властивостей крові, стану мікроциркуляторного русла та ін.), що ускладнює перебіг патологічного процесу. Тому використання антиоксидантів рослинного походження може сприяти корекції патологічного процесу.

Введення досліджуваних поліфенольних комплексів тваринам в умовах розвитку хронічного тетрахлорметанового гепатиту приводило до змін у метаболізмі ліпідів у печінці та сироватці крові тварин. Було показано, що поліфенольний екстракт з насіння винограду сорту «Каберне» істотно знижує вміст ЗЛ, ТГ та ВЖК у печінці на 44,4%, 45% та 46,7%, відповідно, у порівнянні з контрольною патологією. При цьому вміст загальних ФЛ збільшується на 84%. Аналогічним чином діє поліфенольний екстракт «Ркацителі». Він також зменшував вміст ЗЛ, ТГ та ВЖК на 39,7, 36,7 та 35,4%, відповідно, у порівнянні з контрольною патологією та збільшував вміст ЗЛ на 59,5% у печінці. Значне збільшення рівня ЗФЛ, яке корелює зі зниженням рівня ВЖК, може бути наслідком антиоксидантної дії поліфенолів, оскільки відомо, що розвиток оксидативного стресу, який спостерігається у печінці за наших експериментальних умов, призводить до активації фосфоліпази А2, руйнування фосфоліпідів та збільшення рівня ВЖК [9].

Важливим наслідком розвитку стеатогепатиту є порушення утворення ліпопротеїнів та виділення ЛПДНГ з гепатоцитів [1]. Вплив поліфенольних екстрактів на метаболізм ліпідів у печінці приводив до нормалізації ліпідного обміну у сироватці крові. Зменшення вмісту ТГ, ХС та ВЖК, яке проходило паралельно зі зростанням вмісту ЗФЛ (табл. 1), може свідчити про нормалізацію утворення ліпопротеїнів у печінці щурів.

Референс-препарат метіонін чинив менш виразний вплив на ліпідний обмін у печінці та сироватці крові. При введенні метіоніну спостерігалось зниження вмісту ЗЛ, ТАГ та ВЖК

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ ЕКСТРАКТІВ З НАСІННЯ ВИНОГРАДУ
НА МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ У ПЕЧІНЦІ І СИРОВАТЦІ КРОВІ НА МОДЕЛІ
ГОСТРОГО ТЕТРАХЛОРЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ (M±M, N=6)**

Показник	Інтакт	Контрольна патологія	«Каберне» 0,5мл/кг	«Ркацителі» 0,5мл/кг	Метіонін 25мг/кг
У тканині печінки					
ЗЛ, мг/г тканини	171,71±7,88	289,76±13,39*	162,18±2,83**	174,36±1,86**	209,69±4,91*/**
ХС, ммоль/г	17,78±2,05	32,67±2,62*	22,82±3,87*/**	29,54±2,79*/**	29,98±2,62*/**
ТАГ, мг/г	6,17±0,17	13,29±1,21*	7,45±0,55*/**	8,02±0,46**	8,68±0,87*/**
ВЖК, ммоль/г	4,13±0,57	6,93±0,45*	3,96±0,51**	4,47±0,33**	5,38±0,47*/**
ЗФЛ, ммоль/г	42,67±2,05	17,78±2,62*	32,82±3,87*/**	29,54±2,79*/**	25,98±2,62*/**
У сироватці крові					
ЗЛ, мг/мл канини	1,87±0,08	2,77±0,24*	1,93±0,43**	1,99±0,3**	2,13±0,10*/**
ХС, ммоль/л	5,72±0,34	10,55±0,80*	6,75±0,48*/**	6,76±0,93*/**	9,77±0,49*
ТАГ, мг/мл	0,51±0,17	1,89±0,13*	0,85±0,09**	0,98±0,08*	1,19±0,98*
ВЖК, ммоль/л	1,30±0,14	2,80±0,19*	1,78*/**±0,06	1,99**±0,32	2,05±0,49
ЗФЛ, ммоль/л	12,93±0,53	7,24±0,53*	10,23±0,49*/**	9,72±0,66*/**	9,43±0,69*/**

Примітки:

- * – відхилення достовірне відносно інтактного контролю;
- ** – відхилення достовірне відносно контрольної патології.

у печінці на 27,6, 34,6 та 22,3%, відповідно до контрольної патології. При цьому вміст загальних ЗФЛ збільшувався на 47%.

Отримані дані свідчать про те, що досліджувані поліфенольні екстракти чинять в умовах хронічного тетрахлорметанового гепатиту виражену ліпотропну дію, яка проявилася у зменшенні виразності процесів ліполізу, жирового гепатозу, значному зменшенні проявів гіперліпемії.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що поліфенольні екстракти з насіння винограду сортів «Каберне» та «Ркацителі» демонструють виражену ліпотропну дію в умовах хронічного тетрахлорметанового гепатиту.
2. Поліфенольні екстракти з насіння винограду проявили більш виразний ліпотропний вплив, ніж препарат порівняння.
3. Поліфенольний екстракт «Каберне» чинив найбільш виразний вплив на метаболізм ліпідів у печінці за умов хронічного ураження печінки.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Богомолов П.О. Неалкогольний стеатогепатит: патофізіологія, патоморфологія, клініка і підходи к лечению / П.О. Богомолов, Т.В. Павлова // Фарматека. – 2003. – №10. – С. 31-39.
2. Гепатопротективні властивості поліфенольних комплексів з насіння винограду / [А.С. Саратин, В.С. Чучалин, М.А. Иванов и др.] / Бюл. сибирської медицини. – 2008. – №1. – С. 51-55.

3. Доркина Е.Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е.Г. Доркина // Эксперим. и клин. фармакол. – 2004. – Т.67, №6. – С. 41 - 45.
4. Дослідження деяких фармакологічних властивостей олії з кісточок винограду / Л.М. Вороніна, А.Л. Загайко, Л.В. Галузінська, Б.М. Назен // Клінічна фармація. – 2009. – Т. 13, № 3. – С. 50-53.
5. Порівняльний аналіз біологічної активності субстанцій, отриманих з винограду сорту «Каберне» / [А.Л. Загайко, О.В. Файзуллін, Н.В. Шишкіна та ін.] / Фармац. часопис. – 2008. – №4. – С. 94-97.
6. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
7. Фадеенко Г.Д. Жировая печень: этиопатогенез, диагностика, лечение / Г.Д. Фадеенко // Сучасна гастроентерол. – 2003. – Т. 13, №3. – С. 9-17.
8. Яковенко Э.П. Хронические заболевания печени: диагностика и лечение // Э.П. Яковенко, П.Я. Григорьев / Рос. мед. журн. — 2003. — Т. 11, №5. — С. 291-296.
9. Ježek J. Mitochondrial phospholipase A2 activated by reactive oxygen species in heart mitochondria induces mild uncoupling / J. Ježek, M. Jabůrek, J. Zelenka, P. Ježek // Physiol. Res. – 2010. – Vol. 59, №5. – P. 737-747.

10. Moseley R.H. Liver and biliary tract / R.H. Moseley // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2003. – Vol. 19. – P. 181-184.
11. Puri P.A. Lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease / [P. Puri, R.A. Baillie, M.M. Wiest et al. // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 46, №4. – P. 1081-1090.
12. Tijburg L.B. Regulation of the biosynthesis of triacylglycerol, phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in the liver / L.B. Tijburg, M.J. Geelen, L.M. van Golde // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1989. – Vol. 1004, №1. – P. 1-19.
13. Wilkins W.P. Group VI phospholipases A2: homeostatic phospholipases with significant potential as targets for novel therapeutics / W.P. Wilkins, S.E. Barbour // *Curr. Drug Targets.* – 2008. – Vol. 9, №8. – P. 683-697.
14. Wu C.D. Grape products and oral health. / C.D. Wu // *J. Nutr.* – 2009. – Vol. 139, №9. – P. 1818S-1823S.

УДК 577.126:57.042

А.Л. Загайко, С.В. Заика, О.А. Красильникова, И.В. Сенюк

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ СЕМЯН ВИНОГРАДА НА МОДЕЛИ ОСТРОГО ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТА

Согласно современным представлениям наиболее значимыми метаболическими заболеваниями печени является стеатогепатит, в патогенезе которого - накопление липидов в гепатоцитах и усиление процессов СРО. Для коррекции широко используют гепатопротекторные препараты растительного происхождения, содержащие биофлавоноиды. В работе изучали действие полифенольных экстрактов из семян винограда на модели хронического поражения печени с целью выяснения их липотропных свойств. Исследуемые полифенольные экстракты в условиях хронического тетрахлорметанового гепатита оказывают выраженное липотропное действие, проявившееся уменьшением выраженности жирового гепатоза, значительным уменьшением проявлений гиперлипидемии. Последнее свидетельствует о способности полифенольных комплексов винограда значительно улучшать метаболические процессы в печени при длительном применении.

Ключевые слова: гепатит; полифенолы; тетрахлорметан; фосфолипиды; триацилглицерины

UDC 577.126:57.042

A.L. Zagayko, S.V. Zaika, O.A. Krasilnikova, I.V. Senyuk

RESEARCH OF THE LIPOTROPIC ACTIVITY OF GRAPE SEEDS POLYPHENOL EXTRACTS ON THE MODEL ACUTE TETRACHLORMETAN HEPATITIS

According to modern concepts, the most important metabolic disorder of the liver is steatohepatitis. The accumulation of lipids in hepatocytes and intensification of free-radical oxidation processes are important factors in the pathogenesis of steatohepatitis. For correction of this pathology have been used of hepatoprotective herbal drugs containing bioflavonoids. In this paper we studied the effect of polyphenol extracts from grape seeds under model of chronic liver disease aimed to determine their lipotropic properties. The tested polyphenol extracts have in chronic CCl₄-induced hepatitis expressed lipotropic effect, manifested by decreasing in expression of fatty hepatosis, decreasing of hyperlipidemia manifestations. This indicates the ability of grapes polyphenol complexes improve to metabolic processes liver with prolonged use.

Key words: hepatitis; polyphenols; carbon tetrachlorometan; phospholipids; triacylglycerols

Адреса для листування:
Харків, 61022, вул. Мельникова, 12,
НФАУ, кафедра біохімії
Тел. (057) 706-30-99.

Надійшла до редакції:
20.01.2012