

ВОЗДЕЙСТВИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ КОРРЕКТОРОВ НА ОСНОВНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Л.В. Коваленко, Е.А. Белова

Кафедра патофизиологии и общей патологии Медицинского института Сургутского государственного университета

Резюме. Целью настоящего исследования явилась оценка свойств концентрата полифенолов винограда, черники, брусники и клюквы на основные проявления метаболического синдрома (МэтС) в эксперименте у крыс.

Ключевые слова: метаболический синдром, полифенолы, окислительный стресс, воспаление, гипергликемия.

ВВЕДЕНИЕ

МетС характеризуют как совокупность ожирения, инсулинорезистентности, дислипидемии и артериальной гипертензии [1, 2]. Его распространен у 10–30 % взрослого населения планеты [3]. МетС считают состоянием хронического воспаления низкой степени активности, возникающим вследствие сложного взаимодействия между генетическими и экологическими факторами. Инсулинорезистентность, висцеральное ожирение, атерогенная дислипидемия, эндотелиальная дисфункция, генетическая предрасположенность, повышенное кровяное давление, состояние гиперкоагуляции и хронический стресс являются наиболее известными патогенетическими факторами, которые составляют МетС. Эти обстоятельства определяют в первую очередь интерес исследователей к поиску возможностей коррекции отдельных его проявлений. Так, было обнаружено, что проантоцианидины виноградных косточек снижают концентрацию маркеров воспаления у животных, находящихся на диете, богатой жирами и углеводами. Снижается уровень TNF- α , IL-6, маркеров макрофагов, повышается экспрессия адипонектина [4]. В ряде работ была доказана эффективность применения флавоноида дигидрокверцетина в коррекции инсулинорезистентности у больных сахарным диабетом 2-го типа [5] и комплексной терапии детей с ожирением [6, 7]. Подавляющее количество исследований констатирует, что диетическое потребление ягод может иметь положительное воздействие на здоровье человека [8, 9]. Фитохимические соединения, содержащиеся в мелких ягодах, в основном пред-

ставлены витамином С и полифенолами, такими как антоцианы, фенольные кислоты, флавоны, дубильные вещества. При этом небольшие дикорастущие северные ягоды считается одними из самых богатых источников природных антиоксидантов. Все это и определило актуальность нашего исследования. Для поиска и изучения новых средств для коррекции основных проявлений МетС мы проанализировали концентрат полифенолов водно-спиртовых экстрактов клюквы, черники и брусники, полученных из ягод, собранных в окрестностях города Сургута (Ханты-Мансийский автономный округ – Югра, Российская Федерация), а также полифенолов винограда.

ЦЕЛЬ

Изучить свойства концентрата полифенолов винограда, черники, брусники и клюквы на основные проявления МетС в эксперименте у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали:

1. Концентрат полифенолов винограда сорта «каберне совиньон» казахстанской селекции.

2. Экстракты полифенолов ягод клюквы, черники, брусники, собранных в окрестностях города Сургута.

Вышеуказанные объекты были проверены в эксперименте *in vivo* на модели метаболического синдрома у крыс.

Для эксперимента было взято 100 крыс-самцов Sprague-Dawley (SD) с массой тела 160–180 г, содержащихся в стандартных условиях вивария (12-часо-

POLYPHENOLIC CORRECTORS IMPACT ON BASIC MANIFESTATIONS OF METABOLIC SYNDROME IN EXPERIMENT

L.V. Kovalenko, E.A. Belova

Department of Pathophysiology and General Pathology, Medical Institute, Surgut State University

Summary. The aim of this study is to evaluate the properties of grape, blueberries, cowberries and cranberry polyphenols concentrate on basic manifestations of metabolic syndrome in the experiment in rats.

Keywords: metabolic syndrome, polyphenols, oxidative stress, inflammation, hyperglycemia.

вые периоды освещенности и темноты) и пищевом режиме, рекомендованных для данного вида животных. Все экспериментальные процедуры с животными проводили в соответствии с международными правилами работы с экспериментальными животными (European Communities Council Directive (86/609 EEC)).

Контрольную группу составили 10 интактных крыс, находившихся на стандартной диете вивария и не подвергавшихся каким-либо воздействиям. Опытную группу для моделирования МетС составили 90 крыс, для которых использовали диету с повышенным содержанием углеводов и жиров на протяжении 16 недель.

В качестве источника избыточного количества углеводов использовали раствор 20 %-й фруктозы вместо питьевой воды в течение 8 недель и 10 %-й фруктозы в последующие 8 недель. Для диеты с повышенным содержанием жиров использовали коммерческий вариант корма с повышенным содержанием жиров. За период наблюдения 16 недель по случайным причинам из группы интактных животных выбыла 1 крыса, из опытной группы выбыло 4 животных.

Через 16 недель экспериментальных животных в опытной группе случайным образом делили на следующие группы:

- группа животных, получавших исследуемую субстанцию «концентрат полифенолов винограда» ежедневно, внутрь 0,5 мл через катетер – 15 голов; группа животных, получавших исследуемую субстанцию «экстракт полифенолов клюквы» ежедневно внутрь по 0,5 мл – 17 голов; группа животных, получавших исследуемую субстанцию «экстракт полифенолов брусники» ежедневно внутрь по 0,5 мл – 17 голов;
- группа животных, получавших исследуемую субстанцию «экстракт полифенолов черники» ежедневно внутрь по 0,5 мл – 17 голов;
- группа животных, получавших ежедневно внутрь по 0,5 мл физиологического раствора (плацебо) – 17 голов.

Еще через 2 недели из каждой группы случайным образом выбрали по 8 голов крыс и в течение 10 дней поили их вместо питьевой воды 0,8 %-м раствором натрия хлорида с целью провокации гипертензивного синдрома.

Оставшиеся животные получили дважды (с перерывом в 3 дня) по 45 мг/кг стрептозотоцина в 0,2 М растворе натрия фосфата (pH 4,5). Стрептозотоцин вводили крысам после 12-часовой голодовки, при свободном доступе к воде. Через 3 дня после последней инъекции стрептозотоцина оценивали уровень глюкозы в крови, взятой из хвостовой вены крысы, на приборе для измерения уровня глюкозы крови Gamma Mini (Gamma, Великобритания).

Тест толерантности к инсулину выполняли следующим образом. Раствор кристаллического инсулина (30 МЕ/100 г массы тела, LILLY) вводили подкожно. Образцы крови собирали через 30, 60 и 120 мин в пробирки с гепарином и 25 мкл аликвоты, что было использовано для определения концентрации глюкозы глюкозо-оксидазным методом. Одного разреза на кончик хвоста было достаточно, чтобы собрать все образцы крови. На графике «концентрация/время» строили фармакокинетическую кривую глюкозы в крови. С помощью компьютерной программы Borgia 1.03 рассчитывали AUC (интегральную площадь под фармакокинетической кривой) по методу наименьших квадратов анализ кривой по кривой содержания глюкозы в крови от 0 до 120 минут.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica 6.0. Полученные результаты представлены в виде «среднее значение ± стандартная ошибка среднего значения». Нормальность распределения показателей оценивали с использованием критерия Shapiro-Wilk W-test. Межгрупповые отличия оценивали непараметрическим критерием Mann-Whitney U-test.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сведения, приведенные в табл. 1, позволяют утверждать, что моделирование МетС в условиях нашего эксперимента состоялось. Получен комплекс эффектов, присущих этому: инсулинорезистентность, нарушение липидного обмена с триглицеридемией, повышение уровня холестерина низкой плотности, стеатоз печени, увеличение массы висцерального жира, нарушение выделительной функции почек.

Таблица 1

Показатели жирового обмена и биохимические показатели через 16 недель на фоне специальной диеты

Параметры	Контроль (интактные крысы, n = 9)	Опыт (крысы с МетС, n = 9)
Триглицериды, мг/дл	63,94 ± 2,19	172,6 ± 1,73*
Холестерин, мг/дл	95,29 ± 1,03	152,7 ± 2,56*
ЛПНП, мг/дл	12,48 ± 2,00	67,06 ± 1,65*
ЛПВП, мг/дл	70,97 ± 1,89	63,34 ± 2,52
Глюкоза, ммоль/л	5,06 ± 0,17	6,80 ± 0,36
Билирубин, мкмоль/л	3,16 ± 0,20	5,78 ± 0,33*
АЛТ, мк кат/л	0,33 ± 0,05	0,61 ± 0,07*
ЩФ, МЕ/л	184,00 ± 16,00	388,00 ± 35,00*
Мочевина, ммоль/л	4,80 ± 0,20	4,70 ± 0,30
Креатинин, мкмоль/л	47,00 ± 2,00	63,00 ± 4,00*
Общий белок, г/л	85,40 ± 0,80	83,80 ± 0,60

Параметры	Контроль (интактные крысы, n = 9)	Опыт (крысы с МетС, n = 9)
Периренальный жир, г	3,54 ± 0,51	14,80 ± 1,07*
Масса тела, г	285,30 ± 15,30	302,00 ± 7,00

* Примечание: $p < 0,05$.

Результаты моделирования гипертензивного синдрома у крыс (n = 30) оказались следующими: артериальное давление до приема 0,8 % натрия хлорида составило 150 ± 18,3 мм рт. ст., после 10 дней его приема – 219 ± 13,6 мм рт. ст. Как видно из представленных данных, в условиях нашего эксперимента в полной

мере удалось получить модель артериальной гипертензии на крысах.

Предварительное 10-дневное введение крысам исследуемых субстанций несколько изменило ситуацию с уровнем артериального давления (табл. 2).

Таблица 2

Результаты исследования влияния концентрата полифенолов винограда и водно-спиртовых экстрактов черники, брусники и клюквы на артериальное давление у крыс при моделировании гипертензивного синдрома

Группа животных	Артериальное давление исходное	Артериальное давление на фоне приема исследуемых субстанций
Группа получавшая водно-спиртовый экстракт брусники (n = 6)	219,0 ± 13,6	205,0 ± 3,8, $p = 0,32$
Группа получавшая водно-спиртовый экстракт черники (n = 6)	219,0 ± 13,6	161,0 ± 21,6, $p = 0,04$
Группа получавшая водно-спиртовый экстракт клюквы (n = 6)	219,0 ± 13,6	200,0 ± 10,5, $p = 0,26$
Группа получавшая концентрат полифенолов винограда (n = 6)	219,0 ± 13,6	171 ± 15,7, $p = 0,03$

Как видно из представленных результатов, по средним показателям систолического артериального давления выявляется тенденция снижения уровня давления на фоне применения экстрактов брусники, черники, клюквы и концентрата полифенолов винограда. Однако только в случае использования концентрата полифенолов винограда и черники получены статистически достоверные изменения. Можно считать, что концентрат полифенолов винограда и экстракт черники препятствует возникновению гипертензивного синдрома у крыс, провоцируемого избыточным введением натрия хлорида.

Результаты исследования влияния концентрата полифенолов винограда и водно-спиртовых экстрактов черники, брусники и клюквы на содержание глюкозы в крови крыс с экспериментальным стрептозотоциновым сахарным диабетом приведены в табл. 3.

Содержание глюкозы у интактных крыс до начала эксперимента составило 6,0 ± 0,4 ммоль/л, что укладывается в пределы физиологической нормы для данного вида лабораторных животных. Через 4 суток после введения стрептозотоцина уровень глюкозы в крови крыс достоверно повысился и составил в среднем 31,0 ± 1,4 ммоль/л в контрольной группе и опытных группах, что свидетельствовало о развитии гипергликемии.

Спустя 7 дней после введения концентрата полифенолов винограда, черники, брусники и клюквы уровень глюкозы в крови составил 11,1 ± 0,8, 13,2 ± 1,4, 28,5 ± 1,6, 18,2 ± 1,3 ммоль/л соответственно, в группе контроля уровень глюкозы составил 29,4 ± 1,6 ммоль/л.

Таблица 3

Содержание глюкозы в крови крыс с экспериментальным стрептозотоциновым сахарным диабетом

Группы животных	До лечения	После лечения
Животные с диабетом, получавшие физиологический раствор (плацебо)	31,2 ± 1,4	29,4 ± 1,6
Животные с диабетом, получавшие концентрат полифенолов винограда	31,0 ± 1,9	11,1 ± 0,8*
Животные с диабетом, получавшие водно-спиртовой экстракт черники	30,0 ± 2,2	13,2 ± 1,4*
Животные с диабетом, получавшие водно-спиртовой экстракт брусники	31,4 ± 2,1	28,5 ± 1,6
Животные с диабетом, получавшие водно-спиртовой экстракт клюквы	31,1 ± 1,3	18,2 ± 1,3

* Примечание: $p < 0,05$.

В исследовании концентрат полифенолов винограда и водно-спиртовые экстракты черники и клюквы, в условиях данной модели проявили выраженные гипогликемические свойства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, подобранные для исследования субстанции – концентрат полифенолов винограда

сорта «каберне совиньон» казахстанской селекции и экстракты полифенолов ягод клюквы, черники, брусники, собранных в окрестностях города Сургута имеют довольно выраженный потенциал положительного воздействия на отдельные проявления МетС. Можно считать это свидетельством перспективности дальнейшего исследования данных субстанций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vykoukal D., Davies M.G. Vascular biology of metabolic syndrome // *Vasc. Surg.* 2011. Vol. 54, iss. 3. P. 819–831.
2. Балаболкин М. И. [и др.]. Влияние биофлавоноидов на интенсивность свободнорадикального окисления и активность Na⁺/H⁺-обменника у больных сахарным диабетом типа 2 // *Сахар. диабет.* 2003. № 3. С. 43–51.
3. Manganaris G. A., et al. Berry antioxidants: small fruits providing large benefits // *J. Sci. Food Agric.* 2014. Vol. 94, iss. 5. P. 825–833.
4. Benzie I. F., Choi Siu-Wai. Antioxidants in Food: Content, Measurement, Significance, Action, Cautions, Caveats, and Research Needs // *Advances in Food and Nutrition Research.* 2014. Vol. 71. P. 1–53.
5. Меньщикова, Е. Б. [и др.] Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск: Сибир. университет. изд-во. 2008. 284 с.
6. Строкова Т. В. [и др.]. Дигидрохверцетин в комплексном лечении ожирения у детей // *Лечащ. врач.* 2012. № 6. С. 12–18.
7. Тараховский Ю. С. [и др.]. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пущино: Synchronobook. 2013. 310 с.
8. Seeram N. P. Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease // *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56, iss. 3. P. 627–636.
9. Volek J. S., et al. Phinney Dietary carbohydrate restriction induces a unique metabolic state positively affecting atherogenic dyslipidemia, fatty acid partitioning, and metabolic syndrome // *Prog. Lipid Res.* 2008. Vol. 47. P. 307–318.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Коваленко Людмила Васильевна – д. м. н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии и общей патологии Медицинского института, Сургутский государственный университет; e-mail: lvkhome@yandex.ru.

Белова Екатерина Андреевна – ассистент кафедры патофизиологии и общей патологии Медицинского института, Сургутский государственный университет; e-mail: Ekaterina@palitra-pitania.ru.

ABOUT AUTHORS

Kovalenko Lyudmila Vasilyevna – Doctor of Science (Medicine), Professor, Head of Pathophysiology and General Pathology Department, Medical Institute, Surgut State University; e-mail: lvkhome@yandex.ru.

Belova Ekaterina Andreevna – Assistant, Department of Pathophysiology and General Pathology, Medical Institute, Surgut State University; e-mail: ekaterina@palitra-pitania.ru.