

Сравнительная оценка эффективности применения растительных комплексов для восстановления метаболических процессов в печени после поражения этиловым спиртом

ФОМЕНКО С.Е.

к.м.н., с.н.с., лаборатории биохимии Тихоокеанского океанологического института

им. В.И. Ильичева (ТОИ) ДВО РАН, Владивосток;

КУШНЕРОВА Н.Ф.

д.б.н., руководитель лаборатории биохимии ТОИ, Владивосток;

СПРЫГИН В.Г.

к.б.н., в.н.с. лаборатории биохимии ТОИ, Владивосток;

ГОРДЕЙЧУК Т.Н.

к.б.н., в.н.с. лаборатории биохимии ТОИ, Владивосток.

Изучено влияние природного комплекса олигомерных проантоцианидинов (КОПЦ), выделенного из экстракта “Калифен” (водно-спиртовое извлечение из отходов при переработке плодов калины), на состояние липидного обмена, перекисного окисления липидов и антиоксидантного статуса печени крыс после 7-дневной интоксикации 33%-ным раствором этанола. Для сравнения использовали препарат “Пикногенол” (комплекс проантоцианидинов, выделенный из коры французской морской сосны) и стандартизованный препарат “Легалон” (комплекс флавоноидов из расторопши пятнистой). Показано, что применение КОПЦ после поражения этиловым спиртом способствовало торможению липолиза в жировой ткани и препятствовало развитию жировой инфильтрации печени. Отмечалось восстановление метаболических реакций синтеза фосфолипидов и этерифицирующей функции печени под влиянием КОПЦ у крыс, получавших инъекции 30%-ного этанола. Введение КОПЦ снимало состояние оксидативного стресса в результате ингибирования свободнорадикальных реакций и снижения образования токсичных продуктов липопероксидации. Гепатопротекторная эффективность КОПЦ сравнима с пикногенолом и превосходит легалон по способности снижать содержание малонового диальдегида (МДА), увеличивать уровень восстановленного глутатиона и показателей интегральной антирадикальной активности в печени и плазме крови животных после алкогольной интоксикации. Результаты исследования позволяют рекомендовать применение КОПЦ в комплексной терапии при алкогольных поражениях печени.

Одной из серьезнейших проблем современного общества являются злоупотребление алкоголем и возникающие в связи с этим проблемы здоровья, включая сопутствующее поражение внутренних органов и систем, в первую очередь печени. Хроническое потребление алкоголя сопровождается активацией ферментов микросомальной этанолоксилирующей системы, что приводит к увеличению генерации свободных радикалов, в том числе гидроксильных радикалов, образующихся непосредственно из этанола [9]. В результате активируются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), которые, в свою очередь, обуславливают повреждение клеточных мембран и развитие тяжелой патологии печени.

Проведенные эпидемиологические исследования в европейских странах, где население традиционно предпочитает дистиллированному алкоголю красные вина, показали значительное снижение смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и атеросклероза. Это явление получило название *французский парадокс* [13]. Данный феномен обусловлен содержащимися в красном вине субстанциями, которые снижают факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, таких, как гипертония, высокий уровень холестерина (ХС) в плазме крови, избыток массы тела [32].

Доминирующими компонентами указанных субстанций является комплекс олигомерных проантоцианидинов, которые представляют собой полимерные формы растительных флавоноидов, широко распространенных во фруктах, овощах, орехах, винограде, косточках и семенах плодов. Они обладают широким спектром биологической, фармакологической и терапевтической активности [16], способны эффективно инактивировать свободные радикалы, превосходя в этом в несколько раз известные антиок-

сиданты: витамины С, Е и β-каротин [11]. Биологическая роль проантоцианидинов в организме связана с их способностью участвовать в транспорте электронов и протонов [30], образовывать прочные хелатные комплексы с ионами переходных металлов [21], связывать высокореактивные окисленные радикалы [27], блокируя тем самым процессы ПОЛ, а также взаимодействовать с плазменными и мембранными протеинами, меняя их структурные характеристики [18]. Все важнейшие свойства, присущие проантоцианидинам, обусловлены особенностями их полимерной структуры и наличием большого числа фенольных функциональных групп в молекуле [30].

Несмотря на значительное число работ, посвященных выяснению механизмов действия проантоцианидинов в организме человека и животных, исследований об участии этих соединений в коррективке метаболических нарушений печени, вызванных алкоголем, явно недостаточно.

В настоящее время существует большое количество гепатопротекторных препаратов зарубежного производства, применяемых при заболеваниях печени различной этиологии, в том числе и алкогольной, однако поиск отечественных и более эффективных, а также уникальных по своим биологическим свойствам природных комплексов, постоянно продолжается.

В ранних наших исследованиях [6] было показано, что растительный препарат, полученный из отходов при производстве сока калины (*Viburnum sargentii* Koehne) (патент №217733 от 18.08.2000г.) и зарегистрированный под торговой маркой “Калифен” (свидетельство на торговый знак №228327 и №225516 от 09.10.2000), проявляет ярко выраженные антиоксидантные и гепатопротекторные свойства. При изучении химического состава калифена

было обнаружено, что более 50% от сухого остатка составляют полифенольные соединения, основным компонентом которых является комплекс олигомерных проантоцианидинов, с которым ассоциируется более 80% удельной антирадикальной активности [7].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния природного КОПЦ, выделенного из жмыха калины (гребни, косточки и кожа ягод), на состояние липидного обмена, процессы перекисного окисления липидов печени и антиоксидантный статус печени после поражения этиловым спиртом.

Методы исследования

Препарат готовили на 40%-ном этиловом спирте, в процессе реперколяции на 1 кг сырья выход экстракта составлял 1 л. Готовый экстракт упаривали на водяной бане при T 45–55°C до 2/3 объема для удаления этанола. Выделение КОПЦ из полученного экстракта производили по методу, описанному В.Г. Спрыгиным с соавторами [7]. Эксперимент проводили на белых крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г, содержащихся на стандартном рационе питания. Животным в течение 7 дней вводили внутривенно 33%-ный раствор этанола в суточной дозе 7,5 мл/кг дважды в сутки с последующей отменой (депривация) в течение 7 дней. КОПЦ крысы получали после последнего введения раствора этанола 1 раз в сутки внутривенно в дозе 100 мг/кг массы тела. В качестве препаратов сравнения использовали пикногенол (проантоцианидиновый комплекс, выделенный из коры французской морской сосны *Pinus maritime*) и легалон (группа флавоноидов из экстрактов плодов расторопши пятнистой *Silybum marianum*). Препараты сравнения вводили по той же схеме, что и КОПЦ, и в той же дозе (100 мг/кг массы тела), которая, согласно литературным данным [25], является допустимой суточной дозой для олигомерных проантоцианидинов. Контролем служили интактные животные, находившиеся в стандартных условиях вивария. Таким образом, в ходе эксперимента были выделены следующие группы животных (по 8 крыс в каждой): 1-я

группа — контроль (интактные); 2-я группа — введение этанола в течение 7 дней; 3-я группа — введение этанола в течение 7 дней с последующей отменой (депривация) в течение 7 дней; 4-я группа — введение КОПЦ в течение 7 дней после 7-дневной алкогольной интоксикации; 5-я группа — введение пикногенола в течение 7 дней после 7-дневной алкогольной интоксикации; 6-я группа — введение легалона в течение 7 дней после 7-дневной алкогольной интоксикации.

Экстракт общих липидов из ткани печени готовили методом J. Folch и соавт. [17]. Для разделения фосфолипидных фракций применяли метод двумерной хроматографии, разработанный V.I. Svetachev, V.E. Vaskovsky [34]. В качестве разделяющей системы использовали смеси растворителей, описанные G. Rouser и соавт. [29]. Идентификацию фосфолипидных фракций на хроматограммах проводили по методу Т. Кейте [5], G. Rouser и соавт. [29], V.E. Vaskovsky и соавт. [35]. Результаты выражали в процентах от суммарного содержания фосфолипидов. Хроматографическое распределение нейтральных липидов и их количественное определение проводили методом одномерной тонкослойной хроматографии в системе растворителей, предложенных G.S. Amenta [10]. Идентификацию пятен нейтральных липидов осуществляли с применением стандартных препаратов. Стандарты и пробы после хроматографирования проявляли парами йода. Результаты выражали в процентах от суммы всех фракций. Содержание МДА определяли по методу М.С. Гончаренко и А.С. Латиновой [2]. Антиоксидантный статус печени оценивали по содержанию восстановленного глутатиона [23] и показателю интегральной антирадикальной активности (ИАА) в печени и плазме крови [26].

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение биохимических показателей в печени животных после интоксикации этанолом в течение 7 дней выявило их значительные изменения. Как видно из табл.1, они проявлялись увеличением содержания ХС на 18% (P<0,01) и фракции свободных жирных кислот

Таблица 1

Влияние растительных препаратов (КОПЦ, пикногенола, легалона) на содержание нейтральных липидов в печени контрольных и получавших 30%-ный этиловый спирт крыс (в % от суммарного уровня M ± m).

Группы животных	Холестерин	Свободные жирные кислоты	Триацилглицерин	Эфиры жирных кислот	Эфиры холестерина	Остаточная фракция
1-я группа Контроль (интактные)	18,52 ± 0,50	15,26 ± 0,52	16,23 ± 0,43	16,88 ± 0,65	19,37 ± 0,75	13,73 ± 3,09
2-я группа Этанол	21,85 ± 0,66**	18,34 ± 0,43***	18,83 ± 0,38**	14,34 ± 0,30**	16,02 ± 1,29*	10,62 ± 0,87
3-я группа Депривация	20,01 ± 0,24*	18,73 ± 0,48***	18,58 ± 0,35*	15,03 ± 0,89	15,40 ± 1,53*	12,51 ± 1,76
4-я группа Депривация + КОПЦ	17,95 ± 0,18 ⁽²⁾	13,09 ± 0,61 ⁽³⁾	16,59 ± 0,57	18,83 ± 0,65 ⁽¹⁾	19,32 ± 0,91 ⁽¹⁾	14,20 ± 1,12
5-я группа Депривация + пикногенол	16,98 ± 0,46 ⁽³⁾	14,98 ± 0,51 ⁽³⁾	14,85 ± 0,63 ⁽³⁾	18,90 ± 0,96 ⁽¹⁾	19,42 ± 0,52 ⁽¹⁾	14,88 ± 2,52
6-я группа Депривация + легалон	18,61 ± 0,23 ⁽¹⁾	14,38 ± 0,36 ⁽³⁾	13,25 ± 0,71 ⁽³⁾	20,03 ± 1,00 ⁽²⁾	20,90 ± 1,23 ⁽³⁾	12,84 ± 2,05

Примечание: * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001 — сравнение с контролем, ⁽¹⁾ — P<0,05; ⁽²⁾ — P<0,01; ⁽³⁾ — P<0,001 — сравнение с 3-й группой (депривация)

(СЖК) на 20% ($P < 0,001$) относительно контрольных величин. Статистически достоверно возросло содержание триацилглицеринов (ТАГ) на 16% ($P < 0,01$) при одновременном снижении уровня эфиров жирных кислот (ЭЖК) и эфиров холестерина (ЭХС) на 15% ($P < 0,01$) и 17% ($P < 0,05$), соответственно.

Согласно данным литературы [12], при потреблении этанола происходит мобилизация жирных кислот из жировой ткани в печень. Из-за нарушения процессов митохондриального окисления избыток жирных кислот в печени, а также активация микросомальных ферментов, ответственных за синтез ТАГ, способствуют развитию жировой инфильтрации. Подтверждением данного феномена является существенное увеличение массы печени. Так, показатель весового коэффициента печени возрос на 19% (с 3421 ± 105 мг в контроле до 4060 ± 80 мг/100 г массы во 2-й группе, $P < 0,01$). Повышение уровня свободного ХС в печени происходит в результате накопления ацетил-КоА, образующегося в значительных количествах при окислении этанола, а также из-за блокирования синтеза ХС в желчные кислоты [22]. В то же время заметно снижается количество этерифицированного ХС, что может быть обусловлено ингибированием активности ацилКоА: холестеролацилтрансферазы (АХАТ) [15]. Полученные данные свидетельствуют о нарушении этанолом этерифицирующей функции печени.

По мнению авторов [15], усиленный липогенез в печени направлен преимущественно в сторону образования нейтральных липидов, в то время как синтез фосфолипидов ослаблен. Проведенный нами анализ фракционного состава фосфолипидов в печени крыс после алкогольной интоксикации показал достоверное снижение содержания основных структурных компонентов мембран — фосфатидилхолина (ФХ) на 8% ($P < 0,05$) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА) на 15% ($P < 0,01$) (табл. 2). В содержании минорных метаболически активных фракций фосфолипидов прослеживалась тенденция к дестабилизации. Уровень дифосфатидилглицерина (ДФГ) и фосфатидилсерина (ФС) снизился в среднем на 14–18%, тогда как коли-

чество сфингомиелина (СМ) возросло на 39% ($P < 0,05$), а фосфатидинозита (ФИ) и фосфатидной кислоты (ФК) на 22–26%. Следует отметить достоверное увеличение содержания лизофракций фосфолипидов: лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и лизофосфатидилэтаноламина (ЛФЭА) на 44 и 58% ($P < 0,01$) соответственно, что обусловлено активированием фосфолипазы A_2 под действием этанола [24]. Выявленная разбалансировка в количественном содержании фосфолипидных фракций свидетельствует об увеличении проницаемости клеточных мембран и нарушении их функциональной активности [4, 14]. В биохимическом механизме подобной модификации мембранных фосфолипидов немаловажное значение имеет инициируемое этанолом перекисное окисление липидов [28]. Об усилении процессов ПОЛ свидетельствует достоверное повышение количества МДА на 62% ($50,3 \pm 3,8$ нмоль/г ткани против $31,1 \pm 1,4$ нмоль/г ткани в контроле, $P < 0,001$) (см. рисунок). Уровень восстановленного глутатиона (Г-SH), являющегося ключевым звеном в каскаде реакций по инактивации избытка свободных радикалов, был ниже на 34% ($3,16 \pm 0,18$ против $4,81 \pm 0,15$ мкмоль/г ткани в контроле, $P < 0,01$). Как видно из полученных данных, антиоксидантный статус печени животных после алкогольной интоксикации значительно снижен. Подтверждением этому является достоверное уменьшение уровня ИАА в плазме крови на 59% ($1,19 \pm 0,12$ мкМ/мл против $2,90 \pm 0,16$ мкМ/мл в контроле; $P < 0,001$) и в ткани печени на 15% ($2,71 \pm 0,32$ мкМ/мл против $3,18 \pm 0,15$ мкМ/г в контроле; $P < 0,001$).

Через 7 дней после отмены этанола (период депривации) большинство изученных биохимических показателей в ткани печени не нормализовалось. Период депривации (или синдром отмены алкоголя) оценивается многими отечественными и зарубежными специалистами как стрессовая реакция организма, которая сопровождается структурными и функциональными нарушениями, сохраняющимися в течение длительного времени [1]. В этот период отмечалось (табл. 1) повышенное относительно кон-

Таблица 2

Влияние растительных препаратов (КОПЦ, пикногенола, легалона) на уровень фракций фосфолипидов в печени интактных крыс и крыс, получавших внутрибрюшинно 30%-ный раствор этилового спирта (в % от суммарного содержания всех фракций, $M \pm m$)

Группы животных	ФХ	ЛФХ	СМ	ФЭА	ЛФЭА	ФС	ФИ	ФК	ДФГ
1-я группа Контроль (интактные)	45,13 ± 1,10	4,96 ± 0,50	6,37 ± 0,57	23,58 ± 0,83	3,82 ± 0,63	3,67 ± 0,68	4,50 ± 0,61	3,39 ± 0,97	5,07 ± 0,41
2-я группа Этанол	41,48 ± 0,96*	7,14 ± 0,28**	8,85 ± 0,67*	20,13 ± 0,43**	6,03 ± 0,62**	3,02 ± 0,66	5,49 ± 0,87	4,27 ± 0,54	4,38 ± 0,93
3-я группа Депривация	42,63 ± 0,37*	6,49 ± 0,49*	6,14 ± 0,42	22,46 ± 0,98	5,55 ± 0,19*	3,66 ± 0,67	5,27 ± 0,79	3,56 ± 0,85	4,17 ± 0,67
4-я группа Депривация + КОПЦ	44,46 ± 0,75 ⁽¹⁾	3,65 ± 0,50 ⁽²⁾	6,06 ± 0,39	24,87 ± 0,46 ⁽¹⁾	2,96 ± 0,53 ⁽³⁾	3,36 ± 0,37	5,26 ± 0,46	3,87 ± 0,36	5,47 ± 0,43
5-я группа Депривация + пикногенол	44,76 ± 0,91 ⁽¹⁾	3,81 ± 0,98 ⁽¹⁾	6,13 ± 0,90	23,39 ± 0,58	4,27 ± 0,55 ⁽¹⁾	3,02 ± 0,49	5,86 ± 0,50	3,15 ± 0,47	5,62 ± 1,12
6-я группа Депривация + легалон	46,28 ± 0,66 ⁽²⁾	3,07 ± 0,54 ⁽³⁾	6,87 ± 0,24	21,85 ± 0,71	3,24 ± 0,64 ⁽²⁾	4,18 ± 0,54	5,79 ± 1,07	3,23 ± 0,94	5,73 ± 0,56

Примечание: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$ — по сравнению с контролем, ⁽¹⁾ — $P < 0,05$; ⁽²⁾ — $P < 0,01$; ⁽³⁾ — $P < 0,001$ — по сравнению с 3-й группой.

троля содержание СЖК (на 23%; $P < 0,001$) и ТАГ (на 15%; $P < 0,05$), что указывает на продолжение процесса накопления липидов в печени и ее жировую инфильтрацию. Это подтверждается еще большим увеличением массы печени у животных в период депривации. Так, показатель весового коэффициента печени возрос на 27% ($P < 0,001$) по сравнению со 2-й группой (этанол) и достиг 4343 ± 105 мг/100 г массы. Уровень свободного ХС был выше контрольных величин, но в то же время достоверно ниже (на 8%) аналогичных показателей 2-й группы, что может быть обусловлено снижением накопившегося ацетил-КоА в отсутствие этанола. Одновременно оставалось достоверно сниженным на 20% ($P < 0,05$) содержание ЭХС, то есть активность АХАТ не восстановилась.

Анализ фракционного состава фосфолипидов показал, что содержание лизоформ фосфолипидов сохранялось достоверно повышенным, чем в контроле, в среднем на 31–45% ($P < 0,05$), но это было уже ниже соответствующих величин во 2-й группе. Количество ФХ было снижено на 6% ($P < 0,05$) по сравнению с контролем, тогда как в содержании ФЭА и метаболически активных мембранных фосфолипидов (ДФГ, СМ, ФС) намечалась тенденция к нормализации.

Период депривации характеризовался низкой антиоксидантной защитой печени алкоголизованных животных. Так, МДА превышал контрольный уровень на 60% ($P < 0,001$) и составлял $49,8 \pm 2,3$ нмоль/г ткани, что говорит о сохранении высокой активности процессов свободнорадикального окисления липидов. В пользу этого свидетельствует достоверно низкий пул Г-SH, содержание которого было ниже контроля на 18% ($3,94 \pm 0,16$ мкМ/г ткани; $P < 0,05$) и снижение ИАА в ткани печени на 59% ($1,28 \pm 0,24$ мкМ/г; $P < 0,001$) и плазме крови на 44% ($1,62 \pm 0,13$ мкМ/мл; $P < 0,001$).

Из полученных результатов следует, что при отмене этанола в печени животных сохраняются существенные сдвиги метаболических процессов, сформировавшиеся при интоксикации этанолом.

Применение серии растительных препаратов (КОПЦ, пикногенол, легалон) в период отмены этанола выявило идентичную направленность их воздействия на процессы нормализации изученных биохимических параметров. Так, под действием исследуемых препаратов отмечалось снижение в содержании СЖК и ТАГ по сравнению с соответствующими показателями в печени крыс 3-й группы, которые препараты не получали (табл. 1), т.е., происходило торможение липолиза в жировой ткани, что сопровождалось снятием жировой инфильтрации печени. Подтверждением этого вывода является уменьшение массы печени крыс. Весовые коэффициенты печени животных 4-, 5- и 6-й групп снизились в среднем на 11–12% ($P < 0,01$), что составляло 3814 ± 105 мг/100 г массы при введении КОПЦ, 3896 ± 100 мг/100 г массы при введении пикногенола и 3865 ± 120 мг/100 г массы при введении легалона по сравнению с 4333 ± 105 мг/100 г массы в 3-й группе.

Введение растительных препаратов в отличие от обычной депривации (табл. 1) сопровождалось достоверным снижением уровня ХС печени в среднем на 7–15% ($P < 0,05$ – $0,001$) при одновременном повышении его эфиров на 25–36% ($P < 0,05$ – $0,001$). Данный факт может быть обусловлен активацией полифенолами катализируемой ЛХАТ реакции [3, 33] переноса жирных кислот с лецитина на ХС с образованием его эфиров и поступлением в гепатоцит возросшего потока этерифицированного ХС.

Кроме того, это также может быть следствием мобилизации ХС в желчные кислоты [36].

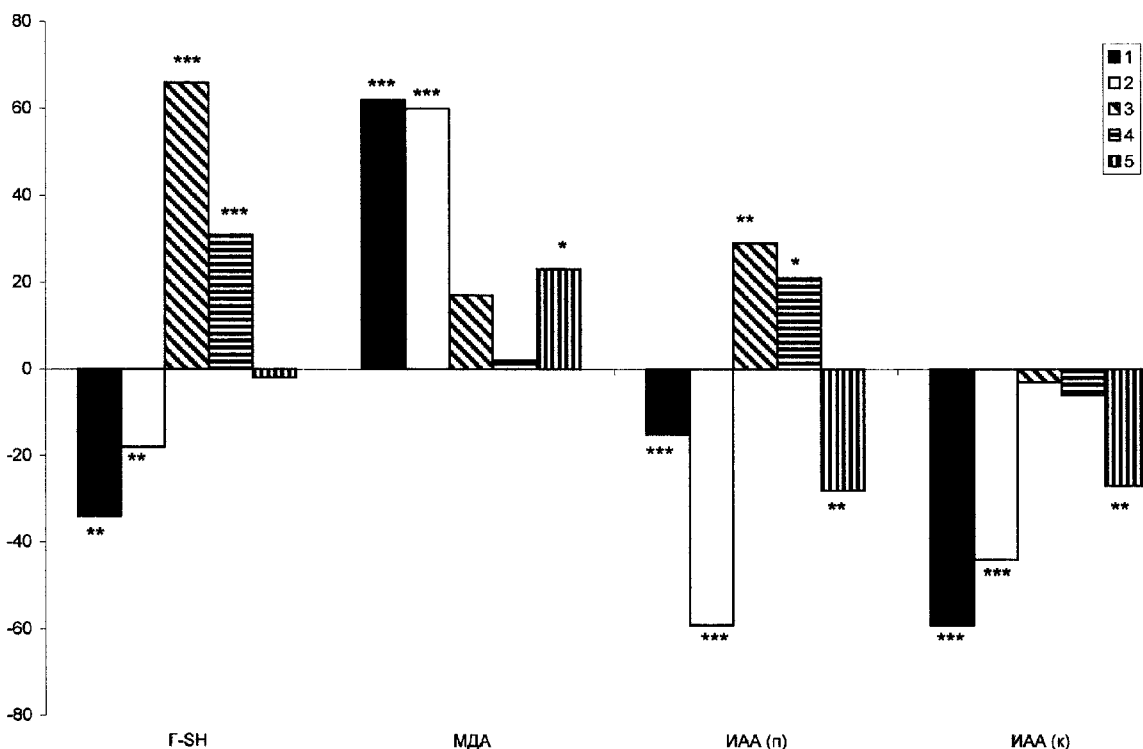
Таким образом, растительные полифенолы активируют этерифицирующую функцию печени, подавленную этанолом, что также подтверждается повышением содержания эфиров жирных кислот и выявленными изменениями в фракционном составе фосфолипидов.

Среди фосфолипидных фракций отмечалось восстановление их количественного содержания и отсутствие достоверных отличий от контроля (табл. 2). Однако при сравнении фосфолипидного содержания печени крыс 4-, 5- и 6-й групп с таковым у животных 3-й группы выявлены повышение уровня ФХ на 4–9% ($P < 0,05$ – $0,01$) и тенденция к увеличению концентрации ФЭА. По-видимому, под действием препаратов активирован синтез фосфолипидов из ТАГ для восстановления структуры мембран, нарушенной этанолом. Важно отметить достоверное снижение уровня лизофракций (ЛФХ и ЛФЭА) в печени этих животных, что свидетельствует об ингибировании фосфолипаз полифенолами исследуемых комплексов [20]. Данный вывод согласуется с отмеченным выше снижением концентрации СЖК и ТАГ под действием препаратов.

Таким образом, результаты свидетельствуют о том, что все препараты обладают выраженными мембрано- и гепатопротекторными эффектами.

Биохимический механизм действия исследованных комплексов обусловлен тем, что растительные полифенолы обладают способностью улавливать свободные оксигенные и пероксильные радикалы, образуя при этом относительно стабильный феноксил-радикал [31]. Это в значительной степени сдерживает процессы ПОЛ и снимает состояние оксидативного стресса. В результате уменьшается уровень МДА, особенно под влиянием пикногенола (количество МДА восстановилось до контрольных показателей). В группах животных, получавших КОПЦ и легалон, содержание МДА несколько превышало норму, но однако было ниже, в среднем на 27–28% ($P < 0,001$), аналогичных показателей у животных, не получавших препараты. Вызывает интерес значительное повышение содержания восстановленного глутатиона: под действием КОПЦ его уровень превысил контроль на 66% ($P < 0,001$), пикногенола — на 31% ($P < 0,001$), легалона — восстановился до контрольных значений. Из этих данных следует, что КОПЦ и пикногенол способствуют не только нормализации, но и накоплению фонда Г-SH. По нашему мнению, это обусловлено способностью олигомерных проантоцианидинов участвовать в реакциях окисления—восстановления глутатиона в качестве доноров протонов [30]. Ингибирование процессов ПОЛ и накопление уровня Г-SH в период депривации свидетельствуют об увеличении антиоксидантного статуса печени животных, получавших растительные комплексы. Исследование уровня ИАА в печени и плазме крови животных 4–6-й групп подтверждает данный вывод. Так, после введения пикногенола и КОПЦ в течение 7 дней ИАА превысила контрольные значения в среднем на 21–29% ($P < 0,001$) в печени, а в плазме крови приблизилась к норме. В то же время под влиянием легалона уровень ИАА как в печени, так и в плазме был ниже контрольных показателей на 27–28% ($P < 0,001$) (рисунок).

Таким образом, результаты исследований доказывают, что все испытанные препараты (КОПЦ, пикногенол, легалон), применяемые после поражения печени этиловым спиртом, оказывают антиоксидантное и гепатопротектор-



Влияние растительных препаратов на изменение биохимических показателей (в % от контроля) в ткани печени и плазме крови крыс после поражения этиловым спиртом:

Г-SH — восстановленный глутатион, МДА — малоновый диальдегид, ИАА_(п) — интегральная антирадикальная активность в печени, ИАА_(к) — интегральная антирадикальная активность в плазме крови; группы: 1 — этанол, 2 — депривация, 3 — депривация + КОПЦ, 4 — депривация + пикногенол, 5 — депривация + легалон. Достоверные отличия от контроля: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$. По оси ординат — изменение биохимических показателей в процентах от контрольных величин.

ное действие. При этом их влияние на обмен липидов, процессы ПОЛ, антиоксидантную систему печени в значительной мере обусловлены непосредственным участием входящих в их состав полифенолов, которые способны выступать в качестве самостоятельной окислительно-восстановительной системы (фенол—семихинон—хинон), в которой важная роль отводится нестойкому семихиноновому радикалу, выполняющему роль “ловушек” для реакционноспособных радикалов [19].

Препарат КОПЦ из калины по эффективности воздействия сравним с пикногенолом, по-видимому, благодаря аналогичному с ним химическому составу [8].

Анализируя результаты исследования по влиянию этанольного гепатопротектора «Легалон» и КОПЦ из калины, следует отметить, что КОПЦ проявлял большую биологическую активность и превосходил легалон по способности снижать содержание МДА, увеличивать уровень Г-SH и показателей ИАА в печени и плазме животных в период депривации. По остальным показателям КОПЦ проявлял биологическую активность, сходную с таковой легалона, и может быть рекомендован в комплексной терапии при алкогольных поражениях печени.

Список литературы

1. Алкогольная болезнь: Поражение внутренних органов при алкоголизме / Т.Г. Траянова, А.Ю. Николаев, Л.Г. Виноградова и др. / Под ред. В.С. Моисеева. — М.: Изд-во УДН, 1990. — 129 с.
2. Гончаренко М.С., Латинова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лаб. дело. — 1985. — № 1. — С. 60—61.
3. Гаскина Т.К., Курилович С.А., Горчаков В.Н. Изменение скорости лецитинхолестеролацилтрансферазной реакции и ли-

пидных показателей сыворотки крови под влиянием катергена в условиях острого экспериментального перерождения печени // Вопр. мед. химии. — 1989. — Т. 35, № 4. — С. 24—28.

4. Грибанов Г.А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов // Вопр. мед. химии. — 1991. — Т. 37, № 4. — С. 2—10.

5. Кейтс М. Техника липидологии. — М.: Мир, 1975. — 300 с.

6. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф. Калифен и эликит — новые полифенольные гепатопротекторы растительного происхождения // V Международный съезд “Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения”. — Санкт-Петербург—Петродворец, 5—7 июля 2001. — СПб., 2001. — С. 435—439.

7. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. и др. Антирадикальная активность извлечений из дальневосточных растений, содержащих олигомерный проантоцианидиновый комплекс // Бюлл. физиол. и патол. дыхания. — 2002. — Вып. 11. — С. 50—53.

8. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф. Метод оценки и стандартизации олигомерных проантоцианидиновых комплексов, полученных из различных видов растительного сырья // Хим.-фарм. Журнал. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 31—35.

9. Albano E., Clot P., Morimoto M. et al. Role of cytochrome P450E1-dependent formation of hydroxyethyl free radical in the development of liver damage in rats intragastrically fed with ethanol // Hepatology. — 1996. — Vol. 23, N 1. — P. 155—163.

10. Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography // J. Lipid. Res. — 1964. — Vol. 5. — N 2. — P. 270—272.

11. Bagchi D., Bagchi M., Stohs S.J. et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention // Toxicology. — 2000. — Vol. 148, N 2—3. — P. 187—197.

12. Baraona E., Lieber C.S. Alcohol and lipids // Recent. Dev. Alcohol. — 1998. — Vol. 14. — P. 97—134.

13. Bohm H. The French paradox — do wine phenolics protect health? Part I: Wine phenolics // *Ernahrungs-Umschau*. — 2000. — Vol. 47, N 2. — P. 44 p.
14. Carrasco M.P., Sanchez-Amate M.C., Marco C., Segovia J.L. Evidence of differential effects produced by ethanol on specific phospholipid biosynthetic pathways in rat hepatocytes // *Br. J. Pharmacol.* — 1996. — Vol. 119, N 2. — P. 233–238.
15. Carrasco M.P., Segovia J.L., Marco C. Incorporation of exogenous precursors into neutral lipids and phospholipids in rat hepatocytes: effect of ethanol in vitro // *Biochem. Pharmacol.* — 1998. — Vol. 56, N 12. — P. 1639–1644.
16. Fine A.M. Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications // *Altern. Med. Rev.* — 2000. — Vol. 5, N 2. — P. 144–151.
17. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues // *J. Biol. Chem.* — 1957. — Vol. 226, N 1. — P. 497–509.
18. Hagerman A.E., Butler L.G. The specificity of proanthocyanidin-protein interaction // *J. Biol. Chem.* — 1981. — Vol. 256, N 9. — P. 4494–4497.
19. Jovanovic S.V., Steenken S., Simic M.G., Hara Y. Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoids radical // *Flavonoids in health and disease*. Ed by Rice-Evance C.A. and Packer S.L. — New York: Marcel Dekker, 1998. — P. 137–161.
20. Lindahl M., Tagesson C. Flavonoids as phospholipase A2 inhibitors: importance of their structure for selective inhibition of group II phospholipase A2 // *Inflammation*. — 1997. — Vol. 21, N 3. — P. 347–356.
21. Marmolle F., Leize E., Mila I. et al. Polyphenol metallic complexes: characterization by electrospray mass spectrometric and spectrophotometric methods // *Analysis*. — 1997. — Vol. 25, N 8. — P. 53–55.
22. Monroe P., Vlahcevic Z.R., Swell L. Effects of acute and chronic ethanol intake on bile acid metabolism // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 1981. — Vol. 5, N 1. — P. 92–100.
23. Moron M.S., Depierre T.W., Mannervik B. Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver // *Biochem. Biophys. Acta*. — 1979. — Vol. 582. — P. 67–78.
24. Natsuki R. Effect of chronic ethanol on phospholipase A2- and C-activity in chick embryo brain, heart and liver // *Arukuru Kenkyuto Yakubutsu Izon*. — 1995. — Vol. 30, N 5. — P. 348–357.
25. Ray S.D., Parikh H., Hickey E. et al. Differential effects of IH636 grape seed proanthocyanidin extract and a DNA repair modulator 4-aminobenzamide on liver microsomal cytochrome 4502E1-dependent aniline hydroxylation // *Mol. Cell. Biochem.* — 2001. — Vol. 218, N 1–2. — P. 27–33.
26. Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay // *Free Radic. Biol. Med.* — 1999. — Vol. 26, N 9–10. — P. 1231–1237.
27. Ricardo da Silva J.M., Darmon N., Fernandez Y., Mitjavila S. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds // *J. Agric. Food Chem.* — 1991. — Vol. 39. — P. 1549–1552.
28. Rouach H., Fataccioli V., Gentil M. et al. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology // *Hepatology*. — 1997. — Vol. 25, N 2. — P. 351–355.
29. Rouser G., Kritchevsky G., Yamamoto A. Column chromatographic and associated procedures for separation and determination of phosphatides and glycolipids // *Lipid Chromatographic Analysis*. — 1967. — Vol. 1. — P. 99–162.
30. Santos-Buelga C., Scalbert A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds — nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health // *J. Sci. Food Agric.* — 2000. — Vol. 80, N 7. — P. 1094–1117.
31. Sanz M.J., Ferrandiz M.L., Cejudo M. et al. Influence of a series of natural flavonoids on free-radical generating systems and oxidative stress // *Xenobiotica*. — 1994. — Vol. 24, N 7. — P. 689–699.
32. Schneider J., Kaffarnik H., Steinmetz A. Alcohol, lipid metabolism and coronary heart disease // *Herz*. — 1996. — Vol. 21, N 4. — P. 217–226.
33. Sudheesh S., Presannakumar G., Vijayakumar S., Vijayalakshmi N.R. Hypolipidemic effect of flavonoids from *Solanum melongena* // *Plant-foods for human nutrition*. — 1997. — Vol. 51, N 4. — P. 321–330.
34. Svetashev V.I., Vaskovsky V.E. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids // *J. Chromatography*. — 1972. — Vol. 67. — N 2. — P. 376–378.
35. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasenden I.M. A universal reagent for phospholipid analysis // *J. Chromatography*. — 1975. — Vol. 114, N 1. — P. 129–141.
36. Yang T.T., Koo M.W. Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal lipid excretion // *Life Sci*. — 2000. — Vol. 66, N 5. — P. 411–423.

COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFICACY OF APPLICATION OF PLANT COMPLEXES FOR RESTORATION OF METABOLIC PROCESSES IN THE LIVER AFTER AN ALCOHOL LESION

FOMENKO S.E. cand. biol. sci., senior scientific fellow;
 KUSHNEROVA N.F. dr. biol. sci. chief of laboratory of biochemistry;
 SPRYGIN V.G. cand. biol. sci., principal scientific fellow;
 GORDEICYUK T.N. cand. biol. sci., principal scientific fellow;

The aim of this study was to investigate the influence of a natural complex of oligomeric proanthocyanidins (OPC), that was isolated from the extract "Kaliphen" (water-alcohol extraction from the by-products of viburnum berries processing), on lipids metabolism and antioxidant status of the liver in rats after 7-day's lesion with 33% alcohol. As preparations for comparison, "Pycnogenol" (OPC from bark of the Pinus maritima) and preparation "Legalon" (active principle obtained from Silybum marianum) were used. It is shown that application of the OPC after an alcohol lesion promoted inhibition of lipolysis in adipose tissue and prevented the development of the fat liver. Regeneration of phospholipids biosynthesis and of liver etherifying activity was marked. Application of the OPC eliminated a condition of oxidative stress due to inhibition of free-radical reactions and reduction of the toxic lipoperoxidation products formation. By the level of biological activity the OPC is comparable to Pycnogenol and exceeds the ability of Legalon to reduce the level of TBARS, to restore the level of reduced glutathione and the value of integrated antiradical activity in the liver and blood plasma of animals after alcohol lesion. Application of the OPC is recommended to include in therapy of alcoholic lesions of the liver.