

**ПОРІВНЯЛЬНА АКТИВНІСТЬ ВОДОРОЗЧИННОЇ І ЛІПОСОМАЛЬНОЇ ФОРМ  
КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ 2 ТИПУ****ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет****імені І. Я. Гобачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)**

Дана робота є фрагментом НДР «Встановлення ефективності препаратів метаболічного типу дії та ентеросорбції при патологічних процесах різної етіології», № держ. реєстрації 0113U001246.

**Вступ.** Дані літератури свідчать, що частота уражень печінки при цукровому діабеті (ЦД) є суттєво більшою, порівняно з відповідними показниками у людей, які не хворіють на ЦД [10,15]. Більше того, ураження печінки вважається незалежним предиктором кардіо-васкулярних ускладнень у хворих на ЦД 2 типу, причому тяжкість печінкових гістологічних змін прямо корелює з ранніми ознаками атеросклеротичного ураження артерій [14]. Загальновідомо також, що при цукровому діабеті 2 типу та його судинних ускладненнях активація вільнорадикальних процесів є невід'ємною частиною метаболічних порушень [7].

**Метою даної роботи** було встановлення можливості зменшення ураження печінки при експериментальному цукровому діабеті 2 типу за допомогою водорозчинної та ліпосомальної форм кверцетину.

**Об'єкт і методи дослідження.** В експериментах використовували білих щурів-самців. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Піддослідних тварин поділили на чотири групи: 1 – контроль (інтактні тварини); 2, 3 і 4 – тварини з ЦД; тваринам 3 і 4 груп вводили відповідно корвітин і ліпофлавіон (Борщівський хім.-фарм. завод, м. Київ; по 10 мг/кг маси тіла, внутрішньоочередово, щоденно, починаючи через 10 тижнів після введення STZ, протягом 2 тижнів) [3]. Моделювання ЦД 2 типу здійснювали шляхом одноразового внутрішньоочередового введення стрептозотоцину (STZ, Sigma, США, 30 мг/кг маси тіла) [12], після попереднього 4-тижневого утримання тварин на високо жирній дієті [13]. STZ безпосередньо перед введенням

розчиняли у 0,1 молярному цитратному буфері (рН 4,5); контрольній групі вводили відповідну кількість цитратного буферу. Досліджували сироватку крові та тканину печінки. Визначали: активність АлАТ, АсАТ, рівень загального білірубину, використовуючи стандартні набори ООО НПП «Філісит Діагностика», Україна; показники перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – гідроперекиси ліпідів (ГПЛ) [2], ТБК-активні продукти (АП) [1], дієнові кон'югати (ДК) [4]; антиоксидантний статус: активність супероксиддисмутази (СОД) [8], каталази [5], вміст відновленого глутатіону (ВГ) [11], рівень молекул середньої маси (МСМ<sub>1</sub>, МСМ<sub>2</sub>) [6]. Отримані результати піддавали статистичній обробці у програмі Excel з використанням t-критерію Ст'юдента при  $p \leq 0,05$ .

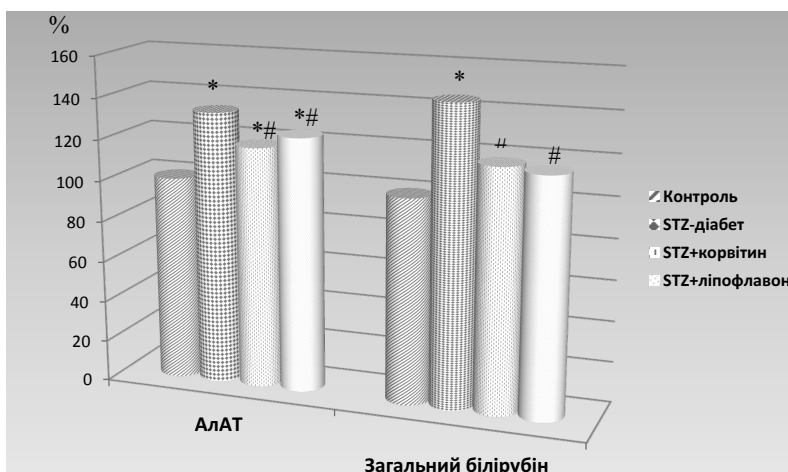
**Результати досліджень та їх обговорення.** Результати біохімічних досліджень виявили порушення процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантного захисту при експериментальному ЦД. Так, спостерігалось збільшення вмісту ТБП у сироватці крові на 80,2 %; у гомогенатах печінки вміст ГПЛ, ТБК та ДК зростав на 70,0, 129,2 % та 40,8 % відповідно. Одночасно збільшувалась активність СОД та каталази – на 60,9 та 19,0 % відповідно, порівняно з контролем, що можна розцінити як компенсаторну реакцію з боку антиоксидантної системи у відповідь на надмірне утворення продуктів ПОЛ. Рівень відновленого глутатіону, навпаки, знижувався на 39,8 %. Спостерігалось підвищення рівня молекул середньої маси: МСМ<sub>1</sub> – на 45,4 %, МСМ<sub>2</sub> – на 131,4 % (**табл.**).

Рівень загального білірубину у сироватці крові зростав на 45,3 % (**рис.**), ймовірно, у зв'язку з порушенням процесів його кон'югації у печінці та виділення з жовчю. Підвищувались рівні амінотрансфераз: АлАТ – на 33,3%, (**рис.**), що свідчить про наявність цитолітичного компонента ураження печінки; АсАТ – достовірно не відрізнявся від групи тварин з ЦД. При застосуванні водорозчинної форми кверцетину рівень ТБК у сироватці крові зменшувався на 33,5 %. У гомогенатах печінки рівень ГПЛ, ТБК та ДК знизились на 31,5, 41,0 та 14,3 % відповідно. Активність СОД

**Біохімічні показники у сироватці крові і печінці тварин при цукровому діабеті 2 типу та корекції корвітином і ліпофлавоном (M±m)**

Показники	Контроль	STZ-діабет	STZ-діабет +корвітин	STZ-діабет +ліпофлавоном
ТБК-АП (кров), ммоль/л	0,91±0,02	1,64±0,01*	1,09±0,02*#	1,04±0,03*#
ТБК-АП (печінка), ммоль/кг	1,30±0,14	2,98±0,21*	1,76±0,08*#	1,42±0,14#»
ГПЛ (печінка) 10 <sup>3</sup> ум. од. /кг	2,88±0,18	4,89±0,22*	3,35±0,15#	3,98±0,19*#»
ДК ум. од/мл (печінка)	2,23±0,10	3,14±0,14*	2,69±0,11*#	2,46±0,08#
СОД (печінка), ум. од. /кг	2,07±0,23	3,33±0,23*	2,31±0,13#	2,16±0,09#
Каталаза (печінка), кат/кг	8,41±0,30	10,01±0,20*	8,92±0,15#	8,61±0,18#
ВГ (печінка), ммоль/кг	4,30±0,13	2,59±0,16*	3,30±0,15*#	3,78±0,11*#»
МСМ <sub>1</sub> , ум. од. /л	0,465±0,02	0,676±0,01*	0,538±0,02*#	0,515±0,02#
МСМ <sub>2</sub> , ум. од. /л	0,255±0,01	0,590±0,02*	0,384±0,01*#	0,357±0,01*#»

**Примітка:** У таблиці та на рисунку різниця достовірна відносно: \* – контролю, # – STZ-діабету, » – групи STZ-діабет+корвітин.



**Рис. Активність аланінамінотрансферази та вміст загального білірубину при ЦД 2 типу та на тлі корекції корвітином і ліпофлавоном.**

та каталази в органі зменшилась на 30,6 та 11,0 %, кількість ВГ зросла на 27,4 %. (табл.). Зменшувались показники ендогенної інтоксикації: МСМ<sub>1</sub> та МСМ<sub>2</sub> – на 20,4 та 35,0 % відповідно. Знижувались активність АлАТ – на 15,4 % та рівень загального білірубину – на 27,5 % (рис.). Вміст АсАТ достовірно не відрізнявся від групи тварин з ЦД, в яких не проводили корекцію.

Введення ліпосомальної форми кверцетину сприяло зниженню рівня ТБК у сироватці крові на 36,6 %, порівняно з групою нелікованих щурів. У

гомогенатах печінки рівень ГПЛ та ТБК зменшився на 18,6 та 52,3 % відповідно, рівень ДК на 21,7%, порівняно з патологією. Активність СОД та каталази знизилась на 35,1 та 14,0%, кількість ВГ зросла – на 46,0 % (табл.). Зменшувались показники ендогенної інтоксикації: МСМ<sub>1</sub> та МСМ<sub>2</sub> – на 23,8 та 39,4 % відповідно. Знижувались активність АлАТ – на 9,2 %, вміст АсАТ достовірно не відрізнявся, рівень загального білірубину на 29,7 % (рис.).

У процесі порівняльного аналізу активності водорозчинної та ліпосомальної форм кверцетину при ЦД 2 типу встановлено, що ліпофлавоном перевершує корвітин за впливом на такі показники, як ТБК, ГПЛ, ВГ у печінці, МСМ<sub>2</sub> у крові, на 19,3, 18,8, 14,5, 7,0 %, відповідно. Даний факт можна пояснити наявністю в молекулі препарату фосфатидилхоліну – структурного компоненту біологічних мембран, який не лише володіє антиоксидантною активністю, але й має здатність вбудовуватись у пошкоджені ділянки біомембрани при її пошкодженні, тим самим сприяючи репаративним процесам та відновленню функції пошкоджених органів [9].

**Висновки.**

1. При експериментальному цукровому діабеті 2 типу з ожирінням спостерігається ураження печінки, що проявляється активацією процесів переокислення мембранних ліпідів, дисбалансом у компонентах антиоксидантної системи, наростанням активності амінотрансфераз, вмісту загального білірубину, рівня середньомолекулярних пептидів у сироватці крові.

2. Препарати кверцетину, корвітин та ліпофлавоном, більшою мірою його ліпосомальна форма, сприяють відновленню порушеного при

цукровому діабеті 2 типу балансу у системі прооксиданти/антиоксиданти, зменшенню активності амінотрансфераз, вмісту загального білірубину у сироватці крові, рівня ендогенної інтоксикації.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані дані про гепатозахисну активність препаратів кверцетину при експериментальному цукровому діабеті 2 типу з ожирінням є підґрунтям для подальшого поглибленого вивчення ефективності корвітину і ліпофлавонону та можливості їх подальшого застосування у клініці при даному патологічному процесі

### Література

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
3. Зупанець І. А. Дослідження гострої токсичності та середньо ефективних доз кверцетину при парантеральному введенні в умовах розвитку ниркової недостатності у щурів / І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, Д. С. Харченко // Фармакол. та лікар. токсикол. – 2009. – № 1 (8). – С. 28–32.
4. Колесова О. Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
5. Королук М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
6. Оськина В. В. Среднемолекулярные пептиды спинномозговой жидкости при гнойных менингитах / В. В. Оськина, К. И. Чекалина, Н. И. Габриэлян // Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 23–25.
7. Петринич А. О. Пероксидне окиснення ліпідів й антиоксидантний захист у хворих на гіпертонічну хворобу та в поєднанні з цукровим діабетом 2 типу / А. О. Петринич // Клінічна та експериментальна патологія – 2009. – Т. VIII, № 3 (29). – С. 74–78.
8. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
9. Archakov A. I. Action of phospholipids on hydrophobic microsomal proteins / A. I. Archakov, V. Yu. Uvarov // Phosphatidylcholine (Polyenephosphatidylcholine / PPC): Effects on cell membranes and transport of cholesterol / Eds. A. I. Archakov, K. J. Gundermann. – wbn – Verlag, Bingen / Rhein. – 1989. – P. 127–136.
10. Booth G. Liver at 50% Greater Risk in Diabetes / G. Booth // Diabetes In Control. – 2010. – № 527(27). – Режим доступу: [http://www.diabetesincontrol.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=9504&catid=1&Itemid=17](http://www.diabetesincontrol.com/index.php?option=com_content&view=article&id=9504&catid=1&Itemid=17).
11. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 82. – P. 70–77.
12. HuiJie Wang. Low dose streptozotocin (STZ) combined with highenergy intake can effectively induce type 2 diabetes through altering the related gene expression / HuiJie Wang, Yuan Xiang Jin PhD, Wan Shen, [et al] // Asia Pac J Clin Nutr – 2007. – № 16 (Suppl 1). – P. 412–417.
13. Xiu-HuaShen. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity / Xiu-HuaShen, Qing-Ya Tang, Juan Huang // Experimental Biology and Medicine. – 2010. – № 235. – P. 47–51.
14. Targher G. Nonalcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased incidence of cardiovascular events in type 2 diabetic patients / G. Targher, L. Bertolini, S. Rodella [et al.] // Diabetes Care. – 2007. – № 8, Vol. 30. – P. 2119–2121.
15. Porepa L. Newly diagnosed diabetes mellitus as a risk factor for serious liver disease / L. Porepa // Diabetes In Control. – 2010. – № 526. – Режим доступу: [http://www.diabetesincontrol.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=9504&catid=1&Itemid=17](http://www.diabetesincontrol.com/index.php?option=com_content&view=article&id=9504&catid=1&Itemid=17)

УДК 615.356-06:616.379-008.64]-092.9

#### **ПОРІВНЯЛЬНА АКТИВНІСТЬ ВОДОРОЗЧИННОЇ ЛІПОСОМАЛЬНОЇ ФОРМ КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТУ 2 ТИПУ**

**Посохова К. А., Зозуляк Н. Б., Черняшова В. В.**

**Резюме.** В експерименті на білих щурах-самцях встановлено, що препарати кверцетину – водорозчинний корвітин та, його ліпосомальна форма – ліпофлавіон (щоденне внутрішньоочеревинне введення по 10 мг/кг протягом 14 днів) при експериментальному цукровому діабеті 2 типу з ожирінням (одноразове введення стрептозотоцину, 30 мг/кг маси тіла, на тлі висококалорійної дієти) зменшують прояви ураження печінки, що проявляється відновленням балансу у системі прооксиданти/антиоксиданти, зменшенням рівня амінотрансфераз, загального білірубіну у сироватці крові, показників ендогенної інтоксикації.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2 типу, печінка, кверцетин, корвітин, ліпофлавіон.

УДК 615.356-06:616.379-008.64]-092.9

#### **СРАВНИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДОРАСТВОРИМОЙ И ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМ КВЕРЦЕТИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

**Посохова К. А., Зозуляк Н. Б., Черняшова В. В.**

**Резюме.** В эксперименте на белых крысах – самцах установлено, что препараты кверцетина – водорастворимый корвитин и его липосомальная форма – липофлавіон (ежедневное внутрив брюшинное введение по 10 мг / кг в течение 14 дней) при экспериментальном сахарном диабете 2 типа с ожирением (однократное введение стрептозотоцин, 30 мг / кг массы тела, на фоне высококалорийной диеты) уменьшают проявления поражения печени, проявляется восстановлением баланса в системе прооксиданты / антиоксиданты, уменьшением уровня аминотрансфераз, общего билирубина в сыворотке крови, показателей эндогенной интоксикации.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, печень, кверцетин, корвитин, липофлавіон.

UDC 615.356-06:616.379-008.64]-092.9

### Comparative Activity of Water Soluble and Liposomal Form of Quercetin in Experimental Diabetes Type II

Posokhova K. A., Zozulyak N. B., Chernyashova V. V.

**Abstract. Introduction.** The literature data indicate that the incidence of liver disease in diabetes mellitus (DM) is significantly higher compared with those of people who do not suffer from diabetes. When diabetes occurs metabolism, leading to multiple organ damage, including chili to liver damage, which is the central body that provides the normal course of metabolic processes in the body. One of the causes of death associated with type 2 diabetes, is a disease of the liver. In the USA diabetes as the 1st and 2nd type is the most common cause of liver disease. Moreover, liver damage is considered an independent predictor of cardio-vascular complications in patients with type 2 diabetes, and severity of liver histological changes directly correlated with early signs of atherosclerotic arteries. It is well known also that in type 2 diabetes and its cardiovascular complications activation of free radical processes are an integral part of metabolic disorders.

To date, there are a number of researches that demonstrate the positive effects of bioflavonoids. Quercetin is one of the most studied bioflavonoids, besides its proven recovery effect the condition of diabetes mellitus. That is why we decided to use phosphatidylcholine liposomes that contain quercetin and water soluble form of quercetin in the conditions of oxidative stress on the background of experimental diabetes.

*The aim* of this study was to establish the possibility to decrease liver injury in experimental diabetes mellitus type 2 using water-soluble and liposomal forms of quercetin.

*Materials and methods.* In experiments using rats males. Experimental animals were divided into four groups: 1 – control (intact animals), 2, 3 and 4 – animals with diabetes, the animals of groups 3 and 4 were administered according Corvitin and Lipoflavon (Borshchahivskiy him. -farm. Plant, Kyiv, 10 mg / kg, ip daily, starting 10 weeks after STZ, for 2 weeks). Modeling of type 2 diabetes was done by a single intraperitoneal administration of streptozotocin (STZ, Sigma, USA, 30 mg / kg body weight) after the previous 4 weeks Pets accepted on high fat diet. STZ was dissolved immediately prior to the introduction of a 0.1 molar citrate buffer (pH 4,5); control group injected with the appropriate amount of citrate buffer. We investigated the serum and liver tissue.

We determined: activity of ALT, AST, total bilirubin level, using standard sets OOO NPP «Fylsyt Diagnostics», Ukraine, indicators of lipid peroxidation (LPO) – lipid hydroperoxides (HPL), TBA-active products (AP), diene conjugates (DC), antioxidant status: superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione content (SH), the level of average molecular weight (MSM1, MSM2). The results obtained were subjected to statistical analysis in Excel using Student's t-test at  $p \leq 0,05$ .

*Conclusions.* In experimental type 2 diabetes with obesity observed liver injury, manifested by activation of membrane lipid peroxidation, antioxidant imbalance in the components of the system, increase the activity of aminotransferases, total bilirubin content, the level of the average molecular weight in the serum.

Preparations, Quercetin, and Corvitin Lipoflavon, it is more liposomal form, promote restoration of impaired in diabetes type 2 balance in the system prooxidant / antioxidant, reducing the activity of aminotransferases, total bilirubin content in the blood serum level of endogenous intoxication.

The data on hepatoprotective activity of Quercetin drugs in experimental type 2 diabetes with obesity is the basis for further in-depth study of the efficacy and Corvitin, Lipoflavon and their possible future use in the clinic during this pathological process.

**Key words:** type 2 diabetes, liver, quercetin, corvitin, lipoflavon.

Рецензент – проф. Бобирьова Л. Є.

Стаття надійшла 14. 03. 2014 р.