

Рекомендована д. біол. наук, проф. І. М. Кліщем

УДК 616.98-053.31

## ВПЛИВ ХЛОРОГЕНОВОЇ КИСЛОТИ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ З АЛОКСАНОВИМ ДІАБЕТОМ

© А. П. Левицький<sup>1</sup>, І. А. Селіванська<sup>1</sup>, О. А. Мельник<sup>2</sup>, Т. А. Groшовий<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Інститут стоматології НАМН, Одеса

<sup>2</sup>Одеський національний медичний університет

<sup>3</sup>Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

**Резюме:** відтворення цукрового діабету за допомогою алоксану викликає достовірне підвищення рівня в сироватці крові маркерів запалення – МДА і еластази, а також збільшення ступеня дисбіозу, який визначається за ферментативним методом Левицького. Введення хлорогенової кислоти знижує до норми рівень маркерів запалення і дисбіозу, а також суттєво підвищує знижений при діабеті антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ).

**Ключові слова:** алоксановий діабет, біохімічні показники сироватки, запалення, дисбіоз, хлорогенова кислота, антиоксиданти.

**Вступ.** Хлорогенова кислота (ХГК), складний ефір кавової і хінної кислот, належить до поліфенольних сполук рослинного походження і міститься в значних кількостях в каві, коренях цикорію, насінні соняшнику [1, 2]. Має широкий спектр біологічної активності: антиоксидантну, антимікробну, мембранопротекторну, протизапальну [1, 3]. Останнім часом з'явилися дані про її лікувально-профілактичну дію при цукровому діабеті [4, 5].

Нами розроблена рецептура і технологія таблеток, що містять хлорогенову кислоту (20 мг / табл.), яку отримували з соняшникової макухи [6].

Метою цього дослідження стало вивчення дії ХГК на ряд біохімічних показників сироватки крові щурів з алоксановим діабетом, причому були обрані показники, що відображають наявність запалення, дисбіозу та стану ряду захисних систем організму.

**Методи дослідження.** У роботі використано такі реактиви: алоксан (алоксан 1-водний «ч», НВФ «Синбіас», Україна), хлорогенова кислота (вміст ХГК 50%, джерело – соняшникова макуха, отримана в лабораторних умовах проф. В. І. Литвиненко, ДНЦЛЗ, м. Харків). Решта реактиви кваліфікації «х.ч.» або «ч.д.а.».

Досліди були проведені на 18 білих щурах лінії Вістар (самки, 10 місяців, жива маса 260 ± 10 г), яких розділили на 3 рівних групи: 1-ша – контроль (інтактні), 2-га – з алоксановим діабетом (без лікування), 3-тя – з алоксановим діабетом + перорально ХГК в дозі 2 мг/щура протягом 20 днів. Алоксановий діабет викликали одноразовим введенням внутрішньочеревно

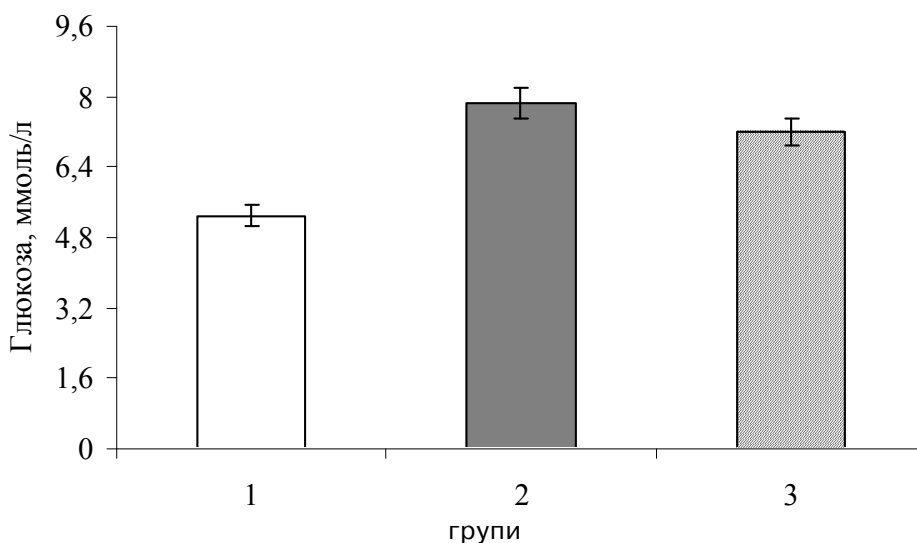
алоксану в дозі 100 мг /кг. Умертвіння тварин здійснювали на 21-й день під тіопенталовом наркозом (20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання із серця.

У сироватці крові визначали вміст глюкози [7], рівень маркерів запалення: концентрацію малонового діальдегіду (МДА) та активність еластази [8], активність уреаз (біохімічний маркер мікробного обсіменіння) [9] і лізоциму (показник неспецифічного імунітету) [9]. За співвідношенням відносних активностей уреаз і лізоциму розраховували ступінь дисбіозу за методом Левицького [9]. Стан антиоксидантних систем організму оцінювали за рівнем каталази [7] і антиоксидантно-прооксидантного індексу АПІ [7].

**Результати й обговорення.** На рисунку 1 показано зміну вмісту глюкози в сироватці крові щурів з алоксановим діабетом, видно, що при моделюванні діабету цей показник достовірно збільшується, а введення ХГК проявляє тенденцію до його зниження (однак  $p > 0,05$ ).

У таблиці 1 наведено результати визначення в сироватці маркерів запалення: МДА та еластази. З даних таблиці 1 видно, що обидва маркери запалення достовірно зростають при моделюванні діабету (більшою мірою – МДА). Введення ХГК знижує рівень цих маркерів практично до норми, що свідчить, по-перше, про розвиток системного запалення при цукровому діабеті, а по-друге, про виражені протизапальні властивості ХГК.

Встановлено, що системне запалення при діабеті – це результат мікробної інтоксикації, яка завжди наявна при дисбіозі 3-го ступеня.



**Рис. 1.** Вплив ХГК на рівень глюкози в сироватці крові щурів з діабетом (\* – Дані достовірні порівняно з групою 1).

**Таблиця 1.** Вплив ХГК на рівень маркерів запалення в сироватці крові щурів з діабетом

№ за/п	Групи	МДА, ммоль/л	Еластаза, мк-кат/л
1	Контроль (інтактні)	0,48 ± 0,10	182,0 ± 10,7
2	Діабет (без лікування)	0,88 ± 0,15 p<0,05	238,2 ± 11,8 p<0,01
3	Діабет + ХГК	0,54 ± 0,12 p>0,5 p <sub>1</sub> >0,05	189,8 ± 8,8 p>0,5 p <sub>1</sub> <0,01

**Примітки:** p – показник достовірності відмінностей з групою 1; p<sub>1</sub> – показник достовірності відмінностей з групою 2.

У таблиці 2 наведено результати визначення активності уреази, лізоциму і ступеня дисбіозу. З даних таблиці 2 видно, що при алоксановому діабеті достовірно зростає ступінь дисбіозу (в 1,7 раза) як за рахунок збільшення мікробного обсіменіння (зростання активності уреази), так і за рахунок зниження імунітету (зниження актив-

ності лізоциму). Введення ХГК достовірно знижує активність уреази і достовірно збільшує активність лізоциму, що практично усуває явище генералізованого дисбіозу. Ці результати підтверджують наявні в літературі дані про антимікробну дію ХГК і підтверджують, що ХГК має і антидисбіотичні властивості.

**Таблиця 2.** Вплив ХГК на активність уреази, лізоциму і ступінь дисбіозу в сироватці крові щурів з діабетом

№ за/п	Групи	Уреаза, мк-кат/л	Лізоцим, од/л	Ступінь дисбіоза, од.
1	Контроль (інтактні)	0,179 ± 0,024	8,8 ± 2	1,00 ± 0,10
2	Діабет (без лікування)	0,230 ± 0,021 p>0,05	65 ± 2 p<0,001	1,74 ± 0,19 p<0,01
3	Діабет + ХГК	0,182 ± 0,008 p>0,8 p <sub>1</sub> <0,05	74 ± 1 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05	1,21 ± 0,13 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05

**Примітка.** Див. табл. 1.

У таблиці 3 наведено результати визначення активності антиоксидантного ферменту каталази та рівня індексу АПІ, що відображає співвідношення анти- і прооксидантних систем сироватки крові. Дані таблиці 3 підтверджують, що при алок-

сановому діабеті достовірно знижується активність каталази і, особливо, індекс АПІ. Введення ХГК не впливає на знижену активність каталази, проте збільшує (хоча і не до норми) індекс АПІ за рахунок зниження концентрації МДА.

**Таблиця 3.** Вплив ХГК на активність каталази та антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ в сироватці крові щурів з діабетом

№ за/п	Групи	Каталаза, мкат/л	АПІ, од.
1	Контроль (інтактні)	0,184 ± 0,017	3,83 ± 0,37
2	Діабет (без лікування)	0,135 ± 0,010 p<0,05	1,53 ± 0,13 p<0,001
3	Діабет + ХГК	0,130 ± 0,010 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,5	2,41 ± 0,19 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05

**Примітка.** Див. табл. 1.

**Висновки.** ХГК збільшує індекс АПІ не за рахунок активації ендогенної ферментативної антиоксидантної системи, а за рахунок прямої антиоксидантної дії молекули ХГК [1].

Отримані нами результати переконливо

підтверджують лікувально-профілактичну ефективність ХГК при експериментальному цукровому діабеті і дають вагомі підстави вважати, що вона буде не менш ефективною і в клініці у пацієнтів з цукровим діабетом 1 і 2 типів.

### Література

1. Левицький А. П. Хлорогенова кислота: біохімія і фізіологія / А. П. Левицький, Є. К. Вертікова, І. А. Селіванская // Мікробіологія і біотехнологія. – 2010. – № 2 (10). – С. 6–21.
2. Clifford M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism / M.N. Clifford // J. Sci. Food and Agric. [МФИШ]. – 2000. – V. 80, № 7. – С. 1033–1043.
3. Левицький А. П. Структура і функція рослинних поліфенолів / А. П. Левицький // Вісник стоматології. – 2010. – № 5 (73). – Спецвипуск. – С. 18–20.
4. Левицький А. П. Порівняльна гіпоглікемія і антиоксидантна ефективність препаратів поліфенолів при експериментального діабеті II типу / А. П. Левицький, Ю. В. Цісельський // Вісник стоматології. – 2010. – № 5. – С. 25–27.
5. Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db mice / J. J. Un, L. Mi-Kyung, B. P. Yong [et

al.] // J. of Pharmacol. and Exper. Therapeutics. – 2006. – V. 318, № 2. – P. 476–483.

6. Степула М. В. Вплив різних факторів на вилучення хлорогенової і кавової кислот з насіння соняшнику / М. В. Степула, В. Г. Щербаків, В. Т. Лобанов // Харчова технологія. – 2006. – № 1. – С. 49–51.

7. Горячковський А. М. Клінічна біохімія в лабораторній діагностиці / А. М. Горячковський. - 3-те вид. – Одеса: Екологія, 2005. – 616 с.

8. Біохімічні маркери запалення тканин ротової порожнини: метод. рекомендації / [Левицький А. П., Деньга О. В., Макаренко О. А. та ін.]. – Одеса, 2010. – 16 с.

9. Пат. 43140 Україна, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А. П., Деньга О. В., Селіванська І. О. [та ін.]. № u200815092; заявл. 26.12.08, опубл. 10.08.09, Бюл. № 15.

## ВЛИЯНИЕ ХЛОРОГЕНОВОЙ КИСЛОТЫ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

**А. П. Левицкий<sup>1</sup>, И. О. Селиванская<sup>1</sup>, О. А. Мельник<sup>2</sup>, Т. А. Грошовый**

<sup>1</sup>Институт стоматологии НАМН, Одесса

<sup>2</sup>Одесский национальный медицинский университет

<sup>3</sup>Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

**Резюме:** моделирование сахарного диабета с помощью аллоксана вызывает достоверное повышение уровня в сыворотке крови маркеров воспаления – МДА и эластазы, а также увеличение степени дисбиоза, который определяется ферментативным методом Левицкого.

Введение хлорогеновой кислоты снижает до нормы уровень маркеров воспаления и дисбиоза, а также существенно повышает сниженный при диабете антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ.

**Ключевые слова:** аллоксановый диабет, биохимические показатели сыворотки, воспаление, дисбиоз, хлорогеновая кислота, антиоксиданты.

**EFFECT OF CHLOROGENIC ACID ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD SERUM OF RATS WITH ALLOXAN DIABETES**

**A. P. Levytskyi<sup>1</sup>, I. O. Selivanska<sup>1</sup>, O. A. Melnyk<sup>2</sup>, T. A. Hroshovi<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Stomatology Institute of NAMS of Ukraine*

<sup>2</sup>*Odessa National Medical University*

<sup>3</sup>*Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsry*

**Summary:** stimulating diabetes with alloxan causes a significant increase in the blood serum levels of inflammatory markers – MDA and elastase, as well as an increase in the degree of dysbiosis, which is determined by the fermentative method of Levytskyi. The introduction of chlorogenic acid decreases the inflammation markers and dysbiosis to normal levels, as well as significantly reducing the increased level of the antioxidant-prooxidant index API in diabetic cases.

**Key words:** alloxan diabetes, biochemical markers, serum parameters, inflammation, dysbiosis, chlorogenic acid, and antioxidants.