

city. Current research on the epidemiology of obesity indicate the existence of significant differences in the prevalence of obesity indices among the population as between countries as between domestic and socio-economic groups of countries. Ukraine is also characterized by variability in regional prevalence of obesity among children. Thus, with its average rate among children in Ukraine 13.50 per 1000 child population, the highest prevalence of obesity is 28.45 per 1,000 children (Vinnytsia region), the lowest — 6.47 per 1000 children (Luhansk region). It was determined that obese children are at increased risk of platypodia acquired (RR = 3,38; CI95%: 1,85-6,17), myopia (RR = 2,07; CI95%: 1,15-3,72), spasm of sphincter of Oddi (RR = 13,52; 95% CI:2,5-73,15), disorders of the involuntary nervous system during adolescence (RR = 2,09; CI95%: 1,15-3,8). Probability of these diseases in children with obesity compared with children without it: platypodia – almost 4 times (OR = 3,6; CI95%: 1,87-6,94), myopia – 2 times (RR = 3,6; CI95%: 1,87-6,94), spasm of sphincter of Oddi – 13 times (RR = 13,73; CI95%: 2,49-75,7), disorders of the autonomic nervous system during adolescence – almost 3 times (RR = 2,67; CI95%: 1,09-6,54).

Conclusions. Children suffering from obesity have an increased risk of noncontagious diseases. Therefore, children with overweight can be seen as at risk of not only obesity but also its associated pathological conditions and diseases. However, the statistics of children overweight in Ukraine is unknown, as remains unknown their medical condition. Work at primary level of medical care screening to identify children with overweight, their accounting, medical and sociological monitoring will contribute to realization of attachment to health care contingent noninfectious risk management strategy.

Keywords: children, obesity, overweight.

Рецензент – проф. Похилько В. І.
Стаття надійшла 24.03.2017 року

УДК: 577.115.3+615.2:616-008.9-097.3:616.36-003.826:577.112.3

Заїчко Н. В., Некрут Д. О.

ВПЛИВ ОМЕГА-3 ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ТА СИМВАСТАТИНУ НА МАРКЕРИ ЦИТОЛІЗУ, ДИСЛІПІДЕМІЇ ТА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ З НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ, АСОЦІЙОВАНОЮ З ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

(м. Вінниця)

nzaichko@mail.ru

Робота виконана в рамках планової НДР кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова «Вплив екзогенних та ендогенних чинників на обмін гідроенсульфідів та асоційованих з ним метаболічних процесів в нормі та при патології», № державної реєстрації — 0113U006461.

Вступ. Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) є одним із поширених хронічних захворювань, що включає широкий спектр гістологічних змін — від стеатозу до стеатогепатиту та цирозу печінки у осіб, що не вживають алкоголь [5,8,19]. Провідними факторами ризику НАЖХП вважають ожиріння, цукровий діабет, метаболічний синдром та дисліпідемію [8,19]. До чинників, що можуть прискорювати розвиток НАЖХП та погіршувати ефективність її лікування, також відносять гіпергомоцистеїнемію (ГГЦ) [2,9]. Стеатогенний ефект ГГЦ може реалізуватись через різні молекулярні механізми – посилення оксидативного стресу, гіпометилування, дисрегуляцію експресії генів ензимів ліпідного обміну, розвиток дисліпідемії [14,23].

Згідно офіційних рекомендацій, фармакотерапія НАЖХП передбачає застосування засобів для корекції ліпідного обміну, але поки не включає спеціальних засобів з гіпогомоцистеїнемічною дією [5,8]. Існують дані, що серед гіполіпідемічних засобів у

статинів та омега-3 поліненасичених жирних кислот (ω -3 ПНЖК) виявлявся супутній гіпогомоцистеїнемічний ефект, а у фібратів — гіпергомоцистеїнемічний ефект [10,15,22]. Статини та ω -3 ПНЖК також проявляють цитопротекторний, антиоксидантний, протизапальний ефекти, що засвідчено в клінічних та експериментальних дослідженнях [6,17,20]. Виникає питання, в якій мірі гіполіпідемічні засоби здатні коригувати метаболічні порушення за умов НАЖХП, асоційованої з ГГЦ.

Мета дослідження: встановити вплив препарату омега-3 поліненасичених жирних кислот (епадолу-нео) та симвастатину на маркери цитолізу, дисліпідемії та оксидативного стресу у щурів з НАЖХП, що поєднувалась з тіолактоновою ГГЦ.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 100 щурах-самцях із початковою масою 210-280 г, розподілених на 7 дослідних груп (n=10) та 3 контрольних групи (n=10). Під час експериментів тварини перебували в стандартних умовах виварію, з 12-годинним світловим режимом день/ніч, при температурі 22±2°C та відносній вологості повітря 50±5%, воду і корм отримували ad libitum згідно нормативів. Всі досліди виконані у відповідності до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), положенням Євро-

пейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директивами Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження», що засвідчено комітетом з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

Модель НАЖХП, асоційованої з ГГЦ, створювали у 7 груп щурів шляхом 60-добового застосування високожирової дієти (54% ккал за рахунок жирів, 29% ккал за рахунок вуглеводів, 17% ккал за рахунок протеїнів) із одночасним навантаженням тіолактоном гомоцистеїну (100 мг/кг в/шл) як описано раніше [4]. Через 60 діб частину щурів з НАЖХП+ГГЦ (група 2) та контрольної групи виводили з досліду. З 61-ої доби і до завершення досліду 6 груп щурів з НАЖХП+ГГЦ переводили на стандартну дієту (СД), що початала 21% ккал за рахунок жирів, 62% ккал за рахунок вуглеводів, 17% ккал за рахунок протеїнів. За цих умов тваринам 4-х груп упродовж 14 та 28 діб 1 раз на добу в/шл вводились гіполіпідемічні засоби — симвастатин в дозі 20 мг/кг маси тіла (групи 5, 6) або препарат ω -3 ПНЖК в дозі 150 мг/кг маси тіла (групи 7, 8). В роботі застосовані фармакопейні препарати симвастатину (Вазиліп, КРКА) та ω -3 ПНЖК (Епадол-Нео, АТ «Київський вітамінний завод»). 1 капсула епадолу-нео містить 300 мг ейкозапентаєнової кислоти, 200 мг докозагексаєнової кислоти, 498 мг інших жирних кислот, 2 мг d- α -токоферолу. Щури груп порівняння отримували еквівалентну кількість розчинників. Тварин піддавали етаназії шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом (тіопентал натрію 100 мг/кг в/оч).

Сироватку отримували центрифугуванням цільної крові при 1500 об/хв 15 хв при 18-22°C. Активність аланінамінотрансферази (АЛТ, КФ 2.6.1.2); рівень ліпідів — загального холестеролу (ЗХС), тригліцеридів (ТГ), холестеролу ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ), холестеролу ліпопротеїнів низької щільності (ХС ЛПНЩ), холестеролу ліпопротеїнів дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ) визначали з використанням стандартних наборів реактивів на аналізаторі Beckman Coulter AU 480 OLYMPUS.

Рівень альбуміну в сироватці крові визначали за реакцією з бромкрезоловим зеленим за набором «Альбумин Агат (Біоконт)». Вміст сечовини в сироватці крові визначали за реакцією діацетилмонооксимом за набором «Мочевина Агат (Біоконт)». Вміст білірубину визначали за реакцією з діазотованою сульфаніловою кислотою в присутності кофеїнового реактиву (метод Ендрашика) за набором «Білірубін» (Філісіт-Діагностика, Україна). Активність ГГТ (КФ 2.3.2.2) в сироватці крові визначали за швидкістю вивільнення 4-нітроаніліну з гама-глутамілнітроаніліду уніфікованим методом за набором «ГГТ» (Філісіт-Діагностика, Україна). Вміст гомоцистеїну визначали імуноферментним методом за наборами «Homocysteine EIA» (Axis-Shield, Англія) відповідно до інструкції фірми-виробника на аналізаторі STAT FAX 303/PLUS.

Для біохімічних досліджень печінку гомогенізували в охолодженому середовищі 1,15% КСІ (відношення маса/об'єм 1:4) при 3000 об/хв (тефлон-

скло). Центрифугували 30 хв при 600 g, відбирали аліквоти постядерного супернатанту і до проведення досліджень зберігали при -20°C. В гомогентах печінки визначали активність NADPH-оксидази (КФ 1.6.3.1) за поглинанням NADPH при 340 нм [13], тіоредоксинредуктази (КФ 1.8.1.9) — за швидкістю NADPH-залежного відновлення 5,5'-дітіобіс(2-нітробензоату) — DTNB [16], супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1) — за інгібуванням окиснення кверцетину [3]. Вміст ТБК-активних продуктів визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою за набором «ТБК-Агат (Біоконт)». Вміст карбонільованих протеїнів визначали за утворенням фенілгідрозонів при взаємодії з 2,4-динітрофенілгідразиним [6].

Обробку первинного матеріалу проводили за допомогою універсальних статистичних програм MS Excel, SPSS22 for Windows. Визначали середнє значення, стандартні помилки. Для оцінки відмінностей показників застосовували при нормальному розподілі — параметричний t-критерій Ст'юдента, при відхиленні від нормального розподілу — непараметричний критерій U Мана-Уїтні, нормальність розподілу визначали за критерієм Шапіро-Уїлка. Зв'язок між показниками визначали за допомогою кореляційного аналізу за Спірманом. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$. Результати наведено як $M \pm m$.

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами наших досліджень, модель НАЖХП, асоційованої з тіолактоновою ГГЦ, характеризувалась достовірним підвищенням рівня гомоцистеїну в сироватці крові щурів на 106% на 60 добу досліду (**табл. 1**). Застосування СД упродовж 14 та 28 діб у щурів з НАЖХП+ГГЦ (групи 3 та 4) не викликало змін вмісту гомоцистеїну, який залишався вищим (на 102,8 та 101,1%) порівняно з відповідною контрольною групою. Застосування симвастатину не викликало зниження рівня гомоцистеїну у щурів з НАЖХП+ГГЦ (групи 5 та 6). В той же час, застосування ω -3 ПНЖК справляло достовірний гіпогомоцистеїнемічний ефект: у щурів груп 7 та 8 рівень гомоцистеїну був нижчим на 15,6 та 29,6%, ніж у щурів груп 3 та 4, а також на 13,3 та 27,6% нижчим, ніж у щурів груп 5 та 6, відповідно. Отже, за здатністю коригувати рівень гомоцистеїну в крові препарат ω -3 ПНЖК вірогідно перевершував симвастатин.

Встановлено, що на 60 добу у щурів з НАЖХП+ГГЦ (група 2) виявлялись маркери пошкодження гепатоцитів: активність АСТ та ГГТ в сироватці крові була достовірно вищою на 102,4 та 143,3%, а рівень альбуміну був достовірно нижчим на 7,60% порівняно з контролем.

За вмістом сечовини та білірубину в крові суттєвих міжгрупових відмінностей не спостерігалось. Нормалізація раціону тварин не забезпечувала вірогідних змін біохімічних показників крові у щурів з НАЖХП+ГГЦ у різні терміни досліду (групи 3 та 4).

Застосування симвастатину не викликало суттєвих змін рівня АЛТ, ГГТ та вмісту альбуміну в сироватці крові (групи 5 та 6), натомість застосування препарату ω -3 ПНЖК вірогідно зменшувало біохімічні ознаки цитолізу гепатоцитів (групи 7 та 8). Так, активність АЛТ та ГГТ в сироватці крові у щурів групи 7

Вплив симвастатину та препарату ω-3 ПНЖК на біохімічні показники сироватки крові щурів за умов НАЖХП, асоційованої з ГГЦ (M±m, n=10)

Групи щурів		ГЦ, мкмоль/л	АЛТ, Од/л	ГГТ, мккат/л	Альбумін г/л	Сечовина, ммоль/л	Загальний білірубін, мкмоль/л
1	Контроль-1	5,68±0,49	45,7±3,05	1,36±0,11	40,8±0,72	5,26±0,24	8,84±0,32
	Контроль-2 (14 діб)	5,62±0,48	48,5±2,31	1,44±0,14	41,6±0,83	5,07±0,19	8,63±0,41
	Контроль-3 (28 діб)	5,57±0,51	49,4±2,54	1,37±0,13	41,2±0,74	5,33±0,21	8,76±0,28
2	НАЖХП+ГГЦ	11,7±0,43*	92,5±5,94*	3,31±0,13*	37,7±0,41*	5,28±0,24	9,31±0,57
3	НАЖХП+ГГЦ + СД (14 діб)	11,4±0,51*	81,8±6,52*	3,03±0,12*	38,1±0,12*	5,16±0,24	8,98±0,46
4	НАЖХП+ГГЦ + СД (28 діб)	11,2±0,46*	79,5±4,42*	3,17±0,16*	38,7±0,68*	4,97±0,27	9,08±0,28
	p3,4	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
5	НАЖХП+ГГЦ + сим-вастатин (14 діб)	11,1±0,55*	79,7±2,97*	3,23±0,16*	38,9±0,57	5,04±0,10	9,44±0,55
	p5,3	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
6	НАЖХП+ГГЦ + сим-вастатин (28 діб)	10,9±0,49*	75,6±4,38*#	2,91±0,44*#	39,0±1,16	4,75±0,32	9,22±0,34
	p6,4	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p6,5	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
7	НАЖХП+ГГЦ + ω-3 ПНЖК (14 діб)	9,62±0,44*#	56,8±2,81*#	2,35±0,16*#	39,4±0,80	4,89±0,25	8,68±0,40
	p7,3	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p7,5	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
8	НАЖХП+ГГЦ + ω-3 ПНЖК (28 діб)	7,89±0,67*#	44,3±1,98#	1,83±0,15*#	40,2±0,80#	4,93±0,28	9,39±0,28
	p8,4	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p8,7	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p8,6	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Примітки:

1. * — достовірність відмінностей відносно групи 1 (p<0,05);

2. # — достовірність відмінностей відносно групи 2 (p<0,05).

була достовірно нижчою на 28,6 та 22,4%, ніж у щурів групи 3, а у щурів групи 8 – на 44,3 та 42,3% нижчою, ніж у щурів групи 4. Зауважимо, що активність АЛТ та ГГТ у щурів групи 8 була достовірно нижчою на 41,4 та 37,1%, ніж у щурів групи 6. Рівень альбуміну в сироватці крові у щурів групи 8 був на 6,63% вищим, ніж у щурів групи 2, що може свідчити про відновлення протеїнсинтезуючої функції печінки.

За станом на 60 добу у щурів з НАЖХП+ГГЦ (група 2) виявлялись ознаки атерогенної дисліпідемії (**табл. 2**): сироваткові рівні ТГ та ЛПДНЩ були достовірно вищими на 98,2 та 104%, ЗХС та ХС ЛПНЩ — вищими на 52,8 та 241,7%, а рівень ХС ЛПВЩ – достовірно нижчим на 22,7%, ніж у щурів групи контролю. Нормалізація кількості жирів в раціоні практично не впливала на прояви дисліпідемії за умов НАЖХП+ГГЦ: у щурів груп 3 та 4 реєструвалась гіперхолестеролемія, гіпертриацилгліцеролемія, підвищення рівнів ХС ЛПНЩ (на 220,8 та 121,4%), ХС ЛПДНЩ (на 79,1 та 88,0%), зниження рівня ХС ЛПВЩ (на 15,4 та 11,3%) порівняно з контролем.

Застосування гіполіпідемічних засобів зменшувало атерогенний патерн у щурів з НАЖХП+ГГЦ із певними відмінностями.

Так, прийом симвастатину вірогідно зменшував ознаки дисліпідемії на 14 та 28 добу: рівні ЗХС, ТГ, ХС ЛПНЩ та ЛПДНЩ у щурів групи 5 були достовірно нижчими на 28,5; 15,9; 55,8 та 25,6%, ніж у щурів групи 3, а у щурів групи 6 – нижчими на 31,4; 44,8; 59,7 та 44,7%, ніж у щурів групи 4, відповідно.

Застосування препарату ω-3 ПНЖК також ефективно коригувало показники ліпідного обміну на 14 та 28 добу: у щурів групи 7 рівні ЗХС, ТГ та ЛПДНЩ були достовірно нижчими на 17,2; 32,6 та 32,5%, ніж у щурів групи 3, а у щурів групи 8 — на 23,3; 48,6; 46,8 та 51,1% нижчими, ніж у щурів групи 4. Крім того, застосування препарату ω-3 ПНЖК викликало вірогідне підвищення рівня ХС ЛПВЩ: у щурів груп 7 та 8 цей показник був на 12,1 та 20,6% вищим, ніж у щурів груп 3 та 4, відповідно. Індекс атерогенності у щурів груп 5 та 6 був достовірно нижчим 48,3 та 56,5%, а у щурів груп 7 та 8 – на 40,7 та 58,7% нижчим, ніж у щурів груп 3 та 4, відповідно. Отже, симвастатин більш ефективно коригував рівень ЗХС та

Таблиця 2.

Вплив симвастатину та препарату ω -3 ПНЖК на вміст ліпідів в сироватці крові щурів за умов НАЖХП, асоційованої з ГГЦ ($M \pm m$, $n=10$)

Групи щурів		Вміст ліпідів в сироватці крові, ммоль/л					Індекс атерогенності
		ЗХС	ТГ	ХС ЛПВЩ	ХС ЛПНЩ	ХС ЛПДНЩ	
1	Контроль-1	1,25±0,07	0,57±0,06	0,75±0,03	0,24±0,08	0,25±0,03	0,71±0,15
	Контроль-2 (14 діб)	1,29±0,06	0,53±0,06	0,78±0,03	0,27±0,05	0,24±0,03	0,65±0,08
	Контроль-3 (28 діб)	1,24±0,05	0,55±0,06	0,71±0,04	0,28±0,05	0,25±0,02	0,77±0,07
2	НАЖХП+ГГЦ	1,91±0,10*	1,13±0,09*	0,58±0,05*	0,82±0,11*	0,51±0,04*	2,51±0,35*
3	НАЖХП+ГГЦ + СД (14 діб)	1,86±0,10*	0,95±0,08*	0,66±0,06*	0,77±0,15*	0,43±0,04*	2,09±0,39*
4	НАЖХП+ГГЦ + СД (28 діб) p3,4	1,72±0,09* >0,05	1,05±0,08* >0,05	0,63±0,04* >0,05	0,62±0,12* >0,05	0,47±0,04* >0,05	1,84±0,24* >0,05
5	НАЖХП+ГГЦ + симвастатин (14 діб) p5,3	1,33±0,08# <0,05	0,72±0,06*# <0,05	0,67±0,05 >0,05	0,34±0,08# <0,05	0,32±0,03*# <0,05	1,08±0,17# <0,05
6	НАЖХП+ГГЦ + симвастатин (28 діб) p6,4 p6,5	1,18±0,06# <0,05 >0,05	0,58±0,06# <0,05 >0,05	0,67±0,04 <0,05 >0,05	0,25±0,04# <0,05 >0,05	0,26±0,03# <0,05 >0,05	0,80±0,09# <0,05 >0,05
7	НАЖХП+ГГЦ + ω -3 ПНЖК (14 діб) p7,3 p7,5	1,54±0,08*# <0,05 >0,05	0,64±0,06# <0,05 >0,05	0,74±0,06# >0,05 >0,05	0,51±0,10*# >0,05 >0,05	0,29±0,03*# <0,05 >0,05	1,24±0,25*# >0,05 >0,05
8	НАЖХП+ГГЦ + ω -3 ПНЖК (28 діб) p8,4 p8,7 p8,6	1,32±0,06# <0,05 >0,05 <0,05	0,51±0,05# <0,05 >0,05 >0,05	0,76±0,04# <0,05 >0,05 >0,05	0,33±0,04# <0,05 >0,05 >0,05	0,23±0,02# <0,05 >0,05 >0,05	0,76±0,07# <0,05 >0,05 >0,05

Примітки:

1. * — достовірність відмінностей відносно групи 1 ($p < 0,05$);
2. # — достовірність відмінностей відносно групи 2 ($p < 0,05$).

ХС ЛПНЩ, а препарат ω -3 ПНЖК – рівень ТГ та ХС ЛПВЩ, що в цілому забезпечило майже еквівалентне зниження індексу атерогенності.

Провідним патогенетичним механізмом прогресування НАЖХП вважають оксидативний стрес [19]. За станом на 60 добу у щурів з НАЖХП+ГГЦ (група 2) в печінці реєструвалась більш висока активність прооксиданту NADPH-оксидази (на 116,5%) (табл. 3), вищий вміст ТБК-активних продуктів та карбонільних груп протеїнів (на 116,9 та 57,3%), натомість нижча активність антиоксидантних ензимів СОД та тіоредоксинредуктази (на 46,7 та 31,2%) порівняно з показниками у щурів групи контролю. Нормалізація раціону не впливала на ознаки оксидативного стресу в печінці щурів з НАЖХП+ГГЦ (групи 3 та 4) у різні терміни дослідю.

Виявилось, що препарат ω -3 ПНЖК істотно перевершував симвастатин за впливом на показники оксидативного стресу у щурів з НАЖХП+ГГЦ.

Так, застосування симвастатину викликало помірне зниження активності NADPH-оксидази (на 20,7% відносно щурів групи 2) та тенденцію до зниження вмісту продуктів пероксидації ліпідів та протеїнів лише на 28 добу (група 6) і суттєво не впливало на активність антиоксидантних ензимів у різні

терміни дослідю. В той же час, застосування препарату ω -3 ПНЖК вірогідно зменшувало ознаки оксидативного стресу на 14 та 28 добу: у щурів груп 7 та 8 реєструвалась нижча активність NADPH-оксидази (на 20,7 та 12,4%), нижчий вміст ТБК-активних продуктів (на 35,0 та 44,3%) та карбонільних груп протеїнів (на 29,8 та 22,3%), вища активність тіоредоксинредуктази (на 19,1 та 16,3%) та СОД (на 46,0 та 53,7%) порівняно з щурами груп 3 та 4, відповідно. Крім того, у щурів груп 7 та 8 вміст ТБК-активних продуктів був достовірно нижчим на 43,8 та 40,8%, а карбонільних груп – на 19,6 та 15,4%, ніж у щурів груп 5 та 6.

Отримані нами результати щодо різної ефективності симвастатину та препарату ω -3 ПНЖК за умов НАЖХП, асоційованої з тіолактоновою ГГЦ, в цілому не суперечать даним літератури. Мета-аналіз клінічних досліджень засвідчив, що симвастатин забезпечує корекцію дисліпідемії і не викликає суттєвого зниження рівня трансаміназ, ГГТ, лужної фосфатази у хворих на НАЖХП [12], тоді як ω -3 ПНЖК сприяють нормалізації рівня ГГТ, ТГ та ЛПВЩ, але менш ефективно коригують рівень ЗХС та ЛПНЩ [18]. Відмінності впливу гіполіпідемічних засобів на перебіг оксидативного стресу за умов НАЖХП, асоційованої

Таблиця 3.

Вплив симвастатину та препарату ω-3 ПНЖК на показники прооксидантної та антиоксидантної систем в печінці щурів за умов НАЖХП, асоційованої з ГГЦ (M±m, n=10)

Групи щурів		NADPH-оксидаза, нмоль / хв·мг протеїну	СОД, ум.од. / хв·мг протеїну	Тіоредоксин-редуктаза, нмоль DTNB / хв·мг протеїну	ТБК-активні продукти, мкмоль / мг протеїну	Карбонільні групи, нмоль / мг протеїну
1	Контроль-1	1,27±0,05	3,68±0,15	5,93±0,21	4,33±0,27	2,18±0,12
	Контроль-2 (14 діб)	1,31±0,05	3,72±0,15	6,04±0,22	4,41±0,31	2,21±0,13
	Контроль-3 (28 діб)	1,29±0,07	3,71±0,16	5,88±0,26	4,36±0,22	2,23±0,14
2	НАЖХП+ГГЦ	2,75±0,15*	1,96±0,19*	4,08±0,24*	9,39±0,33*	3,43±0,15*
3	НАЖХП+ГГЦ + СД (14 діб)	2,71±0,14*	2,11±0,16*	4,25±0,20*	8,97±0,31*	3,36±0,15*
4	НАЖХП+ГГЦ + СД (28 діб) p3,4	2,59±0,13* >0,05	2,03±0,17* >0,05	4,42±0,26* >0,05	8,83±0,25* >0,05	3,18±0,13* >0,05
5	НАЖХП+ГГЦ + симвастатин (14 діб) p5,3	2,46±0,13* >0,05	2,15±0,18* >0,05	4,17±0,23* >0,05	8,75±0,30* >0,05	3,27±0,17* >0,05
6	НАЖХП+ГГЦ + симвастатин (28 діб) p6,4 p6,5	2,18±0,11*# <0,05 >0,05	2,31±0,17* >0,05 >0,05	4,68±0,22* >0,05 >0,05	8,31±0,27*# >0,05 >0,05	2,92±0,12*# >0,05 >0,05
7	НАЖХП+ГГЦ + ω-3 ПНЖК (14 діб) p7,3 p7,5	2,15±0,14*# <0,05 >0,05	3,08±0,19*# <0,05 >0,05	5,06±0,22*# <0,05 <0,05	5,83±0,30*# <0,05 <0,05	2,63±0,15*# <0,05 <0,05
8	НАЖХП+ГГЦ + ω-3 ПНЖК (28 діб) p8,4 p8,7 p8,6	1,91±0,15*# <0,05 >0,05 >0,05	3,12±0,21*# <0,05 >0,05 >0,05	5,14±0,20*# <0,05 <0,05 >0,05	4,92±0,29# <0,05 <0,05 <0,05	2,47±0,12# <0,05 <0,05 >0,05

Примітки:

1. * — достовірність відмінностей відносно групи 1 (p<0,05);
2. # — достовірність відмінностей відносно групи 2 (p<0,05).

з ГГЦ, можуть реалізуватись через різні механізми. Наприклад, симвастатин та інші статини можуть пригнічувати експресію гена TxR1 і викликати зниження рівня тіоредоксинредуктази 1 в клітинах гепатоми *in vitro* [11]. Статини викликали зниження експресії мРНК СОД та інших антиоксидантних ензимів (глутатонпероксидази, каталази) в печінці мишей із стеатозом, індукованим метіонінхоліндефіцитною дієтою [21]. Встановлено, що докозогокссаєнова кислота підвищує експресію генів тіоредоксину/пероксиредоксину та збільшує активність тіоредоксинредуктази *in vitro* [7]. Антиоксидантна дія препарату ω-3 ПНЖК також може бути пов'язана зі зниження виразності ГГЦ, яка завжди супроводжується оксидативним стресом.

Таким чином, за умов НАЖХП, асоційованої з ГГЦ, препарати ω-3 ПНЖК можна вважати більш перспективними засобами корекції метаболічних порушень, ніж статини, але виявлені закономірності потребують подальшого підтвердження в клінічних дослідженнях.

Висновки. Застосування гіполіпідемічних засобів з політропними властивостями зменшувало метаболічні порушення за НАЖХП, асоційованої з ГГЦ,

при цьому препарат ω-3 ПНЖК вірогідно перевершував симвастатин за цитопротекторним, антиоксидантним та гіпогемістемічним ефектом на 14 та 28 добу лікування. Препарат ω-3 ПНЖК (епадол-нео, 150 мг/кг в/шл) зменшував ознаки цитолізу, дисліпідемії, оксидативного стресу (знижував активність NADPH-оксидази, вміст ТБК-активних продуктів та карбонільованих протеїнів), підвищував активність антиоксидантних ензимів (тіоредоксинредуктази та СОД) в печінці. Симвастатин (20 мг/кг в/шл) більш ефективно зменшував вміст ЗХС та ХС ЛПНЩ, не впливав на активність АЛТ та ГГТ в крові, помірно знижував активність NADPH-оксидази в печінці, не коригував активність антиоксидантних ензимів та інші ознаки оксидативного стресу.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним напрямком подальших досліджень є вивчення в клінічних умовах ефективності ω-3 ПНЖК, як засобу корекції метаболічних порушень у пацієнтів із НАЖХП, асоційованої із ГГЦ.

Література

1. Декларацийний патент на винахід № 581 10А, Україна, МПК 7 А61К35/16 Спосіб визначення карбонільних сполук в сироватці крові / Шевчук С.В., Пентюк О.О., Мусін Р.А., Заїчко Н.В. — № 2002107890; заявл. 04.10.2002; опубл. 15.07.2003; Бюл. № 7.
2. Звягинцева Т.Д. Неалкогольный стеатогепатит и методы патогенетической коррекции / Т.Д. Звягинцева, С.В. Глущенко // Міжнародний медичний журнал. — 2014. — Т. 20, № 2 (78). — С. 29-32.
3. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.В. Ковалева // Вопр. мед. химии. — 1990. — Т. 36, № 2. — С. 88-91.
4. Некрут Д.О. Вплив гіпергомоцистеїнемії на формування неалкогольної жирової хвороби печінки у щурів / Д.О. Некрут // Вісник морфології. — 2016. — Т. 22, № 1. — С. 40-45.
5. Харченко Н.В. Адапована клінічна настанова «Неалкогольна жирова хвороба печінки» [Електронний ресурс] / Н.В. Харченко, О.М. Ліщишина, Г.А. Анохіна [та ін.] // Наказ МОЗ України від 06.11.2014 № 826 – Режим доступу до ресурсу: <http://www.dec.gov.ua/mtd/reestr.html>.
6. Beltowski J. Modulation of H2S metabolism by statins: a new aspect of cardiovascular pharmacology / J. Beltowski, A. Jamroz-Wisniewska // Antioxid Redox Signal. — 2012. — Vol. 17, № 1. — P. 81-94.
7. Casanas-Sanchez V. Addition of docosahexaenoic acid, but not arachidonic acid, activates glutathione and thioredoxin antioxidant systems in murine hippocampal HT22 cells: potential implications in neuroprotection / V. Casanas-Sanchez, A. Perez J., N. Fabelo [et al.] // J Neurochem. — 2014. — Vol. 131, № 4. — P. 470-483.
8. Chalasani N. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association / N. Chalasani, Z. Younossi, J.E. Lavine [et al.] // Am J Gastroenterol. — 2012. — Vol. 107, № 6. — P. 811-826.
9. Dai Y. Association of homocysteine level with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis / Y. Dai, J. Zhu, D. Meng [et al.] // J Clin Biochem Nutr. — 2016. — Vol. 58, № 1. — P. 76-83.
10. Dierkes J. Effect of lipid-lowering and anti-hypertensive drugs on plasma homocysteine levels / J. Dierkes, C. Luley, S. Westphal // Vasc Health Risk Manag. — 2007. — Vol. 3, № 1. — P. 99-108.
11. Ekstrom L. Simvastatin inhibits the core promoter of the TXNRD1 gene and lowers cellular TrxR activity in HepG2 cells / L. Ekstrom, M. Johansson, K. Monostory [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. — 2013. — Vol. 430, № 1. — P. 90-94.
12. Eslami L. Statins for non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis [Електронний ресурс] / L. Eslami, S. Merat, R. Malekzadeh [et al.] // Cochrane Database Syst Rev. — 2013. — Режим доступу до ресурсу: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD008623.pub2/epdf>.
13. Fukui T. p22phox mRNA Expression and NADPH Oxidase Activity Are Increased in Aortas From Hypertensive Rats [Електронний ресурс] / T. Fukui, N. Ishizaka, S. Rajagopalan [et al.] // Circ Res. — 1997. — Режим доступу до ресурсу: <https://doi.org/10.1161/01.RES.80.1.45>.
14. Ikeda K. Triacylglycerol/phospholipid molecular species profiling of fatty livers and regenerated non-fatty livers in cystathionine beta-synthase-deficient mice, an animal model for homocysteinemia/homocystinuria / K. Ikeda, A. Kubo, N. Akahoshi [et al.] // Anal Bioanal Chem. — 2011. — Vol. 400, № 7. — P. 1853-1863.
15. Jiang S. Effect of Simvastatin on Plasma Homocysteine Levels and Its Modification by MTHFR C677T Polymorphism in Chinese Patients with Primary Hyperlipidemia [Електронний ресурс] / S. Jiang, Q. Chen, S.A. Venner [et al.] // Cardiovascular Therapeutics. — 2013. — Режим доступу до ресурсу: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1755-5922.12002/pdf>.
16. Jung H.I. Differential thioredoxin reductase activity from human normal hepatic and hepatoma cell lines / H.I. Jung, H.W. Lim, B.C. Kim [et al.] // Yonsei Med J. — 2004. — Vol. 45, № 2. — P. 263-272.
17. Kar S. Omacor and omega-3 fatty acids for treatment of coronary artery disease and the pleiotropic effects [Електронний ресурс] / S. Kar // Am J Ther. — 2014. — Режим доступу до ресурсу: <http://dx.doi.org/10.1097/MJT.0b013e31822b5603>.
18. Lu W. Effects of Omega-3 Fatty Acid in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Meta-Analysis [Електронний ресурс] / W. Lu, S. Li, J. Li [et al.] // Gastroenterol Res Pract. — 2016. — Режим доступу до ресурсу: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1459790>.
19. Monjur A. Non-alcoholic fatty liver disease in 2015 / A. Monjur // World J Hepatol. — 2015. — Vol. 7, № 11. — P. 1450-1459.
20. Nakagami H. A novel pleiotropic effect of statins: prevention of cardiac hypertrophy by cholesterol-independent mechanisms / H. Nakagami, K.S. Jensen, J.K. Liao // Ann Med. — 2003. — Vol. 35, № 6. — P. 398-403.
21. Park H.S. Statins Increase Mitochondrial and Peroxisomal Fatty Acid Oxidation in the Liver and Prevent Non-Alcoholic Steatohepatitis in Mice / H.S. Park, J.E. Jang, M.S. Ko [et al.] // Diabetes Metab J. — 2016. — Vol. 40, № 5. — P. 376-385.
22. Pooya S. The efficacy of omega-3 fatty acid supplementation on plasma homocysteine and malondialdehyde levels of type 2 diabetic patients [Електронний ресурс] / S. Pooya, M.D. Jalali, A.D. Jazayeri [et al.] // Nutr Metab Cardiovasc Dis. — 2010. — Режим доступу до ресурсу: <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2009.04.002>.
23. Robert K. Cystathionine beta synthase deficiency promotes oxidative stress, fibrosis, and steatosis in mice liver / K. Robert, J. Nehme, E. Bourdon [et al.] // Gastroenterology. — 2005. — Vol. 128, № 5. — P. 1405-1415.

УДК: 577.115.3+615.2:616-008.9-097.3:616.36-003.826:577.112.3

ВПЛИВ ОМЕГА-3 ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ТА СИМВАСТАТИНУ НА МАРКЕРИ ЦИТОЛІЗУ, ДИСЛІПІДЕМІЇ ТА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ З НЕАЛКОГОЛЬНОЮ ЖИРОВОЮ ХВОРОБОЮ ПЕЧІНКИ, АСОЦІЙОВАНОЮ З ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ

Заїчко Н. В., Некрут Д. О.

Резюме. Досліджено вплив гіполіпідемічних засобів (симвастатину та ω -3 поліенасичених жирних кислот) на показники функціонального стану печінки та оксидативного стресу у щурів з неалкогольною жировою хворобою печінки (НАЖХП), асоційованою з гіпергомоцистеїнемією (ГГЦ). Застосування обох гіполіпідемічних засобів ефективно зменшувало ознаки атерогенної дисліпідемії, однак препарат ω -3 поліенасичених

жирних кислот вірогідно перевершував симвастатин за цитопротекторним, антиоксидантним та гіпогомоцистеїнемичним ефектом у різні терміни досліджу.

Ключові слова: неалкогольна жирова хвороба печінки, гомоцистеїн, оксидативний стрес, дисліпідемія, симвастатин, омега-3 поліненасичені жирні кислоти.

УДК: 577.115.3+615.2:616-008.9-097.3:616.36-003.826:577.112.3

ВЛИЯНИЕ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И СИМВАСТАТИНА НА МАРКЕРЫ ЦИТОЛИЗА, ДИСЛИПИДЕМИИ И ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У КРЫС С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ

Заичко Н. В., Некрут Д. А.

Резюме. Исследовано влияние гиполипидемических средств (симвастатина и ω -3 полиненасыщенных жирных кислот) на показатели функционального состояния печени и оксидативного стресса у крыс с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП), ассоциированной с гипергомоцистеинемией (ГГЦ). Применение обоих гиполипидемических средств эффективно уменьшало признаки атерогенной дислипидемии, однако препарат ω -3 полиненасыщенных жирных кислот достоверно превосходил симвастатин по цитопротекторному, антиоксидантному и гипогомоцистеинемическому эффектам в разные сроки опыта.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, гомоцистеин, оксидативный стресс, дислипидемия, симвастатин, омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты.

UDC: 577.115.3+615.2:616-008.9-097.3:616.36-003.826:577.112.3

INFLUENCE OF OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS AND SIMVASTATIN ON MARKERS OF CYTOLYSIS, DYSLIPIDEMIA AND OXIDATIVE STRESS IN RATS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE ASSOCIATED WITH HYPERHOMOCYSTEINEMIA

Zaichko N. V., Nekrut D. O.

Abstract. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) includes a wide range of histological changes — from steatosis to steatohepatitis and cirrhosis in people who don't drink alcohol. Among the factors that accelerate the development of NAFLD and impair the effectiveness of its treatment we can single out hyperhomocysteinemia (HHC). Modern NAFLD treatment involves pharmacotherapy, including the use of lipid-lowering effect drugs. But at the same time it is unknown whether these drugs are able to correct metabolic disorders in case if NAFLD is associated with HHC.

The aim of the work was to determine the effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids and simvastatin on cytolysis, dyslipidemia and oxidative stress markers in rats with NAFLD associated with HHC.

Object and methods. Experiments were carried out on 100 white laboratory male rats distributed into 7 experimental and 3 control groups. Model of NAFLD associated with HHC was created in 7 rats groups using high fat diet with simultaneous administration of thiolactone homocysteine (100 mg/kg intragastrically) for 60 days. From 61st day until the end of the experiment 6 groups of rats with NAFLD + HHC were moved to a standard diet. Rats from four groups were administered lipid-lowering agents — simvastatin or ω -3 PUFAs for 14-28 days.

We determined the content of biochemical markers in blood serum, blood lipid spectrum and oxidative stress indicators in rats liver.

Results. The use of ω -3 PUFAs unlike simvastatin has reliable hypohomocysteinemic effect. On the 60th day in rats with NAFLD + HHC we found cytolysis markers. The use of simvastatin did not cause significant changes of ALT, GGT levels and albumin content in blood serum. Instead, the use of ω -3 PUFAs reduced biochemical signs of hepatocytes damage — decrease of ALT (on 39% — 52%, $p < 0,05$), GGT (on 29% — 44%, $p < 0,05$). On the 60th day in rats with NAFLD + HHC were identified signs of atherogenic dyslipidemia. Simvastatin adjusted better the level of total cholesterol and LDL cholesterol, but ω -3 PUFAs adjusted better TG and HDL cholesterol levels, which generally provided almost equivalent atherogenic index decrease. As of day 60 in rats with NAFLD + HHC we revealed progression of oxidative stress. Under these conditions ω -3 PUFAs was significantly superior to simvastatin for a positive impact on oxidative stress indicators.

Conclusions. Thus, the drug ω -3 PUFAs has more significant cytoprotective, antioxidant and hypohomocysteinemic effect in comparison to simvastatin on the 14th and 28th day of treatment.

Keywords: nonalcoholic fatty liver disease, homocysteine, oxidative stress, dyslipidemia, simvastatin, omega-3 polyunsaturated fatty acids.

Рецензент — проф. Непорада К. С.

Стаття надійшла 17.03.2017 року