**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ**

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА**

**«ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ»**

**Мархонь Наталя Олександрівна**

УДК 615.322:638.17:615.07:616-008.6-092.9

**НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ**

**ФІТОЕКСТРАКТІВ ТА ЕКСТРАКТУ МАТОЧНОГО МОЛОЧКА**

**ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ**

14.03.05 – фармакологія

**Автореферат**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук

Київ – 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакології і клінічної фармакології Державного закладу «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров’я України»

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, доцент

**Жилюк Володимир Іванович,**

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», завідувач кафедри фармакології та клінічної фармакології

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук

**Бондаренко Лариса Борисівна,**

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», головний науковий співробітник відділу загальної токсикології

доктор медичних наук**,** професор

**Штриголь Сергій Юрійович,**

Національний фармацевтичний університет,

завідувач кафедри фармакології

Захист відбудеться «15» листопада 2017 р. о «1300» годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» за адресою: 03057, м. Київ, вул. Ежена Потьє, 14.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» за адресою: 03057, м. Київ, вул. Ежена Потьє, 14.

Автореферат розісланий «\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2017 р.

**Вчений секретар**

спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01,

кандидат біологічних наукІ. В. Данова

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

Метаболічний синдром (МС), на думку багатьох авторів, є донозологічним станом, при якому відбуваються порушення процесів вуглеводного, ліпідного, амінокислотного, білкового обміну. Це, в свою чергу, призводить до комплексу захворювань зі зниженням працездатності, якості життя, інвалідизацією та смертю [Беляева Л. М. и др., 2009; Кузнецов Н. С. и др.; Mijajlović M. D. et al., 2017]. Ознаки МС можуть формуватися з дитинства та юнацького віку і часто бути генетично детермінованими. Вони впливають на розвиток головного мозку та його функціонування, сприяють дефіциту когнітивних функцій [Moreira M. C. S. et al., 2015; Pella D. et al., 2011]. У дорослих поступово розвивається церебральний атеросклероз, тромболітичні ускладнення, порушення мозкового кровообігу. Відомо, що наявність церебральних порушень разом із зниженням когнітивних функцій у хворих на МС асоціюється з гіршим прогнозом щодо смертності від серцево-судинних захворювань [Шафранський В. В., 2015; Kim B., Feldman E. L., 2015; Yates K. F. et al., 2012].

Молекулярні механізми, що лежать в основі взаємозв'язку між МС та неврологічними розладами, повністю не встановлені. Однак, очевидно, що всі клітинні та біохімічні зміни, притаманні МС, такі як ендотеліальна дисфункція, розлади метаболізму незамінних жирних кислот, ліпідних медіаторів разом з аномальним сигналінгом в системі інсулін / лептин, можуть зумовлювати взаємозалежність МС та неврологічних розладів, у тому числі інсультом, хворобою Альцгеймера та депресіями [Luque-Contreras D. et al., 2014; Yaffe K., 2007].

Не зважаючи на значний прогрес фармацевтичого виробництва, широкий асортимент препаратів, що знайшли клінічне застосування, зацікавленість засобами природного походження невпинно зростає у всьому світі. На сьогодні понад 200 видів рослин використовуються офіційною медициною України, майже в два разу більше видів – як сировина для гомеопатичних засобів і понад 1000 видів рекомендовані народною медициною та є перспективними на світовому фармацевтичному ринку. Збільшення асортименту нетоксичних рослинних лікарських засобів з органопротекторними властивостями, зокрема у головному мозку, та розробка нових препаратів природного походження, потреба в яких не задовольняється, є однією з важливих проблем сучасної медицини та фармації України [Державна фармакопея, 2014; Куркин В. А., 2015; Цицилин А. Н., 2014].

Листя кропиви дводомної (*Urtica dioica*), листя волоського горіху (*Juglans regia*), плоди горобини звичайної(*Sorbus aucuparia*), листя малини звичайної (*Rubus idaeus*) завдяки наявності великого спектра біологічно активних речовин (флавоноїди, дубильні речовини, ефірні олії, вітаміни та ін.) виявляють широкий спектр біологічної активності та можуть бути ефективними у терапії МС [Gamboa-Gomez C. I. et al., 2015; Patel D. K. et al., 2012]. На окрему увагу заслуговують похідне стільбену – ресвератрол, що міститься у шкірці винограду, у какао, арахісі, у корінні горця гострокінцевого (*Polygonum cuspidatum*), та продукт бджільництва – маточне молочко [Казаков Ю. М. и др., 2013; Pace G. et al., 2014; Zamami Y. et al., 2008]. Проте вплив цих засобів на стан ЦНС, у тому числі за МС, залишається недостатньо вивченим.

Вищезазначене визначає наукову та практичну значущість досліджень біологічної активності екстрактів, отриманих з сировини лікарських рослин та продукту бджільництва, за умов метаболічного синдрому.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» та є фрагментом НДР: «Системна фармакологія неопіоїдних анальгетиків та засобів медикаментозного захисту мозку в умовах експериментальних патологічних станів» (№ держреєстрації 0114U000935).

**Мета роботи:** визначення нейрофармакологічної активності екстрактів лікарських рослин та маточного молочка за умов експериментального метаболічного синдрому.

Згідно з метою дослідження були сформульовані такі **завдання**:

1. Дослідити показники вуглеводного та ліпідного обміну в крові щурів з фруктозоіндукованим метаболічним синдромом та за умов введення на його тлі екстрактів листя кропиви дводомної, листя волоського горіху, плодів горобини звичайної, листя малини звичайної, маточного молочка, а також ресвератролу.
2. Визначити вплив ресвератролу та досліджуваних екстрактів на стан вільнорадикального окиснення ліпідів і білків, а також системи антиоксидантного захисту перебіг у крові щурів з експериментальним метаболічним синдромом.
3. Оцінити вплив ресвератролу та досліджуваних екстрактів на стан мнестичних процесів та поведінкових реакцій щурів з метаболічним синдромом.
4. Дослідити стан пероксидного окиснення ліпідів, окисної модифікації білків, стан системи антиоксидантного захисту та рівень стабільних метаболітів оксиду азоту за умов введення ресвератролу, екстракту маточного молочка та фітоекстрактів у гомогенатах кори великих півкуль головного мозку щурів.
5. Визначити гістоморфометричні зміни в неокортексі та гіпокампі щурів з метаболічним синдромом та за умов введення ресвератролу, екстракту маточного молочка та фітоекстрактів.

*Об’єкт дослідження:* корекція порушень функцій головного мозку при метаболічному синдромі.

*Предмет дослідження:* нейрофармакологічна активність ресвератролу, екстрактів листя кропиви дводомної, листя волоського горіху, плодів горобини звичайної, листя малини звичайної та маточного молочка при експериментальному метаболічному синдромі.

*Методи дослідження:* фармакологічні, біохімічні, фізіологічні, гістологічні та статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено, що за умов експериментального відтворення метаболічного синдрому застосування рідких пропіленгліколевих екстрактів листя кропиви дводомної, плодів горобини звичайної та маточного молочка здатне сприяти регресу метаболічних порушень: зменшувати в крові вміст глюкози, тригліцеридів, загального холестерину, атерогенних ліпопротеїнів низької щільності.

Отримано нові дані щодо наявності церебро- та вазопротекторної активності у екстрактів листя кропиви дводомної, листя волоського горіху, плодів горобини звичайної, листя малини звичайної, маточного молочка та ресвератролу за умов порушень, що виникають на тлі метаболічного синдрому в експерименті. Доповнено наукові дані щодо ноотропної дії лікарських рослин та маточного молочка. Визначено, що екстракти плодів горобини звичайної та маточного молочка можуть частково коригувати порушення когнітивних функцій при метаболічному синдромі.

Вперше встановлено, що екстракт маточного молочка сприяє відновленню клітинного складу СА3 зони гіпокампу та структури його гемомікроциркуляторного русла при метаболічному синдромі і тим самим попереджує розвиток когнітивних порушень.

**Теоретичне та практичне значення одержаних результатів.** У дисертації наведено експериментально-теоретичне узагальнення і розв’язання наукового завдання, що полягало у визначені впливу ресвератролу, екстрактів лікарських рослин і маточного молочка на перебіг метаболічного синдрому в експерименті, порушення мнестичних функцій та поведінкових реакцій за даних умов.

Результати дозволяють розширити та поглибити уявлення про основні зміни вуглеводного обміну, стан системи антиоксидантного захисту, когнітивні порушення, морфологічні зміни неокортексу та гіпокампу, що зумовлені експериментальним метаболічним синдромом, індукованим споживанням високофруктозного розчину. Досліджена фармакологічна дія ресвератролу та екстрактів листя кропиви дводомної, листя волоського горіху, плодів горобини звичайної, листя малини звичайної та маточного молочка. Отримані дані створюють теоретичне підґрунтя для подальшого дослідження фітотерапевтичних (ресвератрол та екстракт плодів горобини звичайної) та апітерапевтичних (екстракт маточного молочка) засобів за умов метаболічного синдрому.

Результати викладено в Інформаційному листі про нововведення в системі охорони здоров’я України «Застосування пропіленгліколевого екстракту плодів горобини звичайної за умов метаболічного синдрому (експериментальні дані)» № 355-2015.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (акт № 10 від 09.03.2016), Буковинського державного медичного університету (акт № 16 від 04.04.2016), Національного фармацевтичного університету (акт № 40 від 18.04.2016), Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (акт № 11 від 18.04.2016), Запорізького державного медичного університету (акт № 12 від 12.05.16); кафедр медичної біології Тернопільського державного медичного університету, Буковинського державного медичного університету (акт № 02 від 27.09.2016), ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (акт № 3 від 13.10.2016), а також кафедри загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (акт № 3 від 19.10.2016) і науково-виробничий процес фармацевтичної компанії ТОВ «Науково-виробнича компанія «Віларус» (м. Ладижин, Україна) (від 14.09.2016).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертація є самостійною науковою працею автора. Автором особисто здійснені інформаційно-патентний пошук, аналіз та узагальнення наукових даних з обраної проблеми. Разом із науковим керівником сформульовано тему дисертаційної роботи, мету та завдання, визначено методи дослідження. Дисертант опрацював моделі та методи досліджень, провів експериментальні дослідження, статистично обробив результати та систематизував їх. За участі наукового керівника сформульовані висновки та підготовлені публікації. Оформлення дисертаційної роботи та автореферату здійснено дисертантом самостійно. Робота виконана на кафедрі фармакології і клінічної фармакології ДЗ «ДМА МОЗ України». Патоморфологічні дослідження проведені за консультативної допомоги викладача кафедри гістології ДЗ «ДМА МОЗ України», к. мед. н. Н. С. Петрук.

**Апробація роботи.** Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені на: Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Інтеграція народної і нетрадиційної медицини в первинну медико-санітарну допомогу» (Київ, 2012 р.); ІХ Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні досягнення у науці» (Прага, 2013 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках» (Київ, 2014 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Нове у медицині сучасного світу» (Львів, 2014 р.); Науково-практичній конференції **«Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини»** (Львів, 2015 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасна медицина: актуальні проблеми, шляхи вирішення та перспективи розвитку» (Одеса, 2015 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2016 р.); IV науково-практичній конференції «Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування» (Київ, 2016 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, пам’яті професора В. В. Дунаєва «Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології» (Запоріжжя, 2016 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 20 наукових праць, в яких повною мірою відображено її зміст, з них 7 статей у фахових наукових виданнях, рекомендованих ДАК МОН України, 1 стаття в закордонному періодичному науковому виданні, 1 інформаційний лист про нововведення в охорону здоров’я України, 11 тез доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій та з’їздів.

**Об’єм та структура дисертації.** Дисертаціяскладається з анотації, списку друкованих праць, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел, що включає 377 посилань (з них 135 – кирилицею і 242 – латиницею) та додатків. Дисертаційна робота викладена на 236 сторінках друкованого тексту, проілюстрована 27 таблицями та 12 рисунками.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи досліджень**. Експериментальні дослідження проведені на 154-х статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 170–220 г. Експериментальних тварин утримували відповідно до санітарно-гігієнічних норм віварію ДЗ «ДМА МОЗ України» (температура повітря: 22 ± 2°C, світлий/темний цикл: 12 / 12 годин, їжа та пиття *ad* *libitum*). Усі досліди проводили у відповідності до законодавства України [Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» / Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 26. – С. 230], правил «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. – Strasbourg, 1986. – 53 p.]. Протоколи експериментальних досліджень та їх результати затверджені рішенням комісії з біоетики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 3 від 20.04.2016 р.).

Відтворення експериментального еквівалента МС у тварин здійснювали шляхом повної заміни питної води на високофруктозний розчин («Galam Ltd», Ізраїль) впродовж 6 тижнів [Bursaс B. N. et al., 2014; [Djordjevic](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Djordjevic%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=24257416) A. et al., 2015]. Масу тварин реєстрували один раз на тиждень протягом усього дослідження.

На 42 добу після початку використання розчину фруктози проводили глюкозотолерантний тест (ГТТ) [Boue S. M. et al., 2012; Nunes S. et al., 2013; Pakdeechote P. et al., 2014]. Повторні вимірювання вмісту глюкози у капілярній крові робили на 15, 30, 60, 90 та 120 хвилинах за допомогою глюкометра Optium Omega («Abbott Diabetes Care Inc.», США).

Впродовж наступних 2 тижнів експериментальним тваринам на тлі вживання розчину фруктози 1 раз на добу внутрішньошлунково вводили досліджувані засоби. Аналіз даних літератури дозволив обрати засоби, які доцільно було б використовувати для лікуванняМС [Гродзінський А.М., 1992; Preeti K. M. et al., 2014].

Використано рідкі пропіленгліколеві екстракти листя малини звичайної (ЕЛМ) сертифікат якості № 202 від 27.08.2014, 1,5 мл/кг; листя кропиви дводомної (ЕЛК), сертифікат якості № 207 від 27.08.2014, у дозі 1,5 мл/кг; плодів горобини звичайної(ЕПГ) сертифікат якості № 208 від 27.08.2014, 1,5 мл/кг; листя волоського горіху (ЕЛГ) сертифікат якості № 210 від 27.08.2014, 1,5 мл/кг; маточного молочка (ЕММ) сертифікат якості № 211 від 27.08.2014, 1,5 мл/кг («Віларус», Україна) [Enright B. P. et al., 2010; Lim T. Y. et al, 2014] та ресвератрол, 20 мг/кг («Agetis Supplements Ltd», Кіпр) [Ashwin R. et al., 2014]. Екстракти стандартизовано за вмістом: масової долі сирого протеїну – ЕММ; суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид – ЕЛГ; вмістом суми каротиноїдів – ЕПГ та ЕЛК; суми флавоноїдів – ЕЛМ. Препаратом порівняння обрано пірацетам, 500 мг/кг («Еgis», Угорщина) [Іванов А. В., 2013]. Контрольним щурам уводили відповідний об’єм води.

Вплив досліджуваних засобів на інтегративні показники функціонування ЦНС вивчали в тестах «відкрите поле» [Калуев А. В., 1999], УРПУ [Иноземцев А. Н. и др., 2007] та Порсолта [Porsolt R. D. et al., 1978]. В тесті «відкрите поле» визначали кількість перетнутих квадратів, вертикальних стійок, обстежених отворів. Як інтегральні критерії УРПУ використані латентний період (ЛП), відсоток тварин з амнезією навички та коефіцієнт антиамнестичної активності (КАа) [Радионова К. С. и др., 2008]. Тест Порсолта, або тест примусового плавання, включав такі поведінкові показники: кількість «зависань», сумарний час іммобільності, а також кількість спроб вибратися з циліндру [Шабанов П. Д. и др., 2010].

Взяття крові та тканин головного мозку для досліджень здійснювалося на 57 добу від початку вживання високофруктозного розчину.

Маркерами розвитку МС у тварин служили порушення толерантності до глюкози, атерогенна дисліпідемія – підвищення рівня загального холестерину (ЗХС), тригліцеридів (ТГ) та ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) разом зі зниженням вмісту ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) – та зростання маси тіла за рахунок абдомінального ожиріння. Для непрямої оцінки інсулінорезистентності (ІР), окрім ГТТ, використовували метаболічний індекс [Ройтберг Г. Е. и др., 2014]. Застосовували інформативні ліпідні коефіцієнти: ТГ/ЛПВЩ, ТГ/ЗХС, ЛПВЩ/ЛПНЩ, а також коефіцієнт атерогенності за А. М. Клімовим [Чернишов В. А. и др., 2007; Ambiger S., 2016; Klancic T. et al., 2016; Wen J. H. et al., 2015].

У сироватці крові щурів оцінювали ліпідний профіль (ЗХС, ЛПНЩ, ЛПВЩ, ТГ) та рівень глюкози глюкозооксидазним методом за допомогою біохімічного аналізатора BioChem SA («High Technology Inc.», США) та стандартних тест-наборів («High Technology Inc.», США; «Філісіт-Діагностика», Україна).

Для біохімічних досліджень тканини кори великих півкуль головного мозку гомогенізували на холоді (4 оС) за допомогою скляного гомогенізатора у сольовому ізотонічному розчині (0,15 М KCl) у співвідношенні 1:40 [Прохорова М. И., 1982].

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) визначали за рівнем малонового діальдегіду (МДА) (И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, 1977; М. С. Гончаренко, А. М. Латинова,1985); стан системи антиоксидантного захисту (САОЗ) організму – за рівнем супероксиддисмутази (СОД) [Чевари С. и др., 1988], активність процесів окисної модифікації білка (ОМБ) – за накопиченням альдегідфенілгідразонів (АФГ) та кетонфенілгідразонів (КФГ) [Беленичев И. Ф., Павлов С. В., 2005; Halliwell B., Yutteridge M. C., 1999] у сироватці крові та тканинах неокортексу з використанням спектрофотометра СФ-56. Процеси обміну оксиду азоту (NO) оцінювали за сумарним рівнем нітритів і нітратів (NOx) в гомогенаті за допомогою реакції Грісса спектрофотометричним методом [Поливода С. М. и др., 2001; Солодков А. П. и др., 2001; Green L. C. et al., 1982].

Для морфологічних досліджень на ротаційному мікротомі виготовляли зрізи неокортексу товщиною 5 мікронів. Депарафіновані зрізи забарвлювали метиленовим синім-азуром ІІ [Коржевский Д. Э., 2016; Саркисов Д. С., 1996]. Морфометричні показники кори великих півкуль та гіпокампу включали: чисельну щільність нейронів та гліоцитів (мм2), середню площу тіл нейронів та гліоцитів (мкм2), нейрогліальний індекс, який розраховували як середню кількість гліальних клітин по відношенню до одного нейрону, відсоткове співвідношення різних форм морфологічно змінених нервових клітин. До деструктивно змінених нейронів відносили такі, що мали ознаки некрозу та клітини-«тіні». Нервові клітини з ознаками пікнозу, що мали гіперхромне конденсоване ядро та сому ідентифікували як апоптотично змінені нейрони. Мікроскопічне вивчення проводили за допомогою світлооптичного мікроскопу «Leika». Морфометричні показники у корі та неокортексі півкуль головного мозку здійснювали в автоматичному режимі з використанням програми аналізу цифрових зображень ImageJ [Collins T. J., 2007].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням ліцензійних програм STATISTICA 6.1 (серійний номер AGAR 909 E415822FA) та Excel 2010. Розраховували середні арифметичні значень (М) та їх стандартні похибки (m). Застосовували параметричний t-критерій Стьюдента за умов нормального розподілу; за його відсутності аналіз проводили за допомогою непараметричного *U*-критерію Мана – Уітні. Для множинного аналізу використовували однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA та критерій Дункана. Для аналізу закономірностей зв’язку між окремими показниками проведено кореляційний аналіз за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона. Використовували 3 рівня статистичної значущості відмінностей результатів досліджень: р < 0,05; р < 0,01 та р < 0,001. Результати досліджень визнавали достовірними за умов рівня статистичної значущості p < 0,05 [Лапач С. Н. и др., 2001; Трухачева Н. В., 2012]. Всі одиниці вимірювання та параметри наведено у відповідності до міжнародної системи одиниць [Липперт Г., 1980].

**Результати дослідження та їх обговорення.** *Аналіз показників вуглеводного та ліпідного обміну у щурів після двотижневого введення екстракту маточного молочка та фітопрепаратів в умовах моделювання експериментального еквівалента метаболічного синдрому.* Тривале використання високофруктозного розчину у якості пиття призвело до розвитку гіперглікемії (+26,2 %, р < 0,01) порівняно з групою інтактних тварин. Зростання рівня глюкози спостерігалось на тлі накопичення надлишкової маси тіла тварин (+24,5 %, р < 0,05).

Виявлено гіпоглікемічну дію всіх обраних засобів у діапазоні від 22,0 % (р < 0,05) до 36,2 % (р < 0,01) (табл. 1). Найбільш виражений ефект мали ЕЛК (−36,2 %, р < 0,01), ЕПГ (−32,5 %, р < 0,01) та ЕММ (−27,2 %, р < 0,01). До того ж ЕММ та ЕЛК водночас гальмували процес збільшення маси щурів [Inzucchi S. E. et al., 2012].

*Таблиця 1*

**Рівні глюкози та основних ліпідних показників в плазмі крові щурів на тлі експериментального метаболічного синдрому та курсового введення досліджуваних засобів, M ± m (n = 6)**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №пп | Групи тварин | Рівень глюкози, ммоль/л | ЗХС, ммоль/л | ЛПНЩ, ммоль/л | ЛПВЩ, ммоль/л | ТГ, ммоль/л |
| 1. | Група контролю | 6,73 ± 0,240 | 1,33 ± 0,061 | 0,182 ± 0,0185 | 1,1137 ± 0,03487 | 0,52 ± 0,039 |
| 2. | Модель МС | 8,49 ± 0,272\*\* | 1,49± 0,049\* | 0,241± 0,0110\* | 1,0002 ± 0,01298\* | 0,89 ± 0,075\*\* |
| 3. | МС + пірацетам, 500 мг/кг | 8,24 ± 0,120\*\* | 1,67 ± 0,036\*\*# | 0,327 ± 0,0167\*\*## | 0,9912 ± 0,00963\*\* | 0,57 ± 0,024## |
| 4. | МС + ресвератрол, 20 мг/кг | 6,45 ± 0,319## | 1,67± 0,079 | 0,066± 0,0200\*\*## | 1,5332 ± 0,05244\*\*## | 0,69 ± 0,077 |
| 5. | МС + екстракт листя кропиви дводомної, 1,5 мл/кг | 5,42 ± 0,305\*## | 1,11 ± 0,164# | 0,147 ± 0,0326 | 0,8327± 0,15546 | 0,70 ± 0,072 |
| 6. | МС + екстракт листя малини звичайної, 1,5 мл/кг | 6,62± 0,475# | 1,55 ± 0,058\* | 0,165 ± 0,0336 | 1,2085 ± 0,09351# | 0,51 ± 0,052# |
| 7. | МС + екстракт листя горіху волоського, 1,5 мл/кг | 7,58 ± 0,356 | 1,66 ± 0,075\*\* | 0,220 ± 0,0173 | 1,1683 ± 0,01859# | 0,56 ± 0,025## |
| 8. | МС + екстракт плодів горобини звичайної, 1,5 мл/кг | 5,74 ± 0,357\*## | 1,48 ± 0,053\* | 0,196 ± 0,0215 | 1,1133 ± 0,02035## | 0,68 ± 0,061 |
| 9. | МС + екстракт маточного молочка, 1,5 мл/кг | 6,19 ± 0,372## | 1,69 ± 0,103\*# | 0,257 ± 0,0117\*\* | 1,1207 ± 0,04908# | 0,53 ± 0,010## |

Примітки: \*–р < 0,05; \*\* – р < 0,01 щодо показників групи контролю (інтактних тварин);

#–р < 0,05; ##–р < 0,01 щодо показників групи тварин з еквівалентом метаболічного синдрому.

Високофруктозний розчин сприяв розвитку гіперхолестеринемії, яка виявлялася підвищенням у крові рівня ЗХС (+11,7 %, р < 0,05), ХС ЛПНЩ (+32,1 %, р < 0,05) та ТГ (+71,3 %, р < 0,05) на тлі зниження рівня ХС ЛПВЩ (−10,2 %, р < 0,05) щодо показників групи контролю. Гіпертригліцеридемія є одним з основних компонентів порушень ліпідного обміну за умов МС [Bonomini F. et al., 2015].

ЕЛК знижував на 25,0 % (р < 0,05) рівень ЗХС в сироватці крові експериментальних щурів, у той час як використання ЕММ та пірацетаму сприяло зростанню вмісту цього маркеру атерогенезу на 14,0 % (р < 0,05) та 12,1 % (р < 0,05) відповідно.

Щодо рівнів ЛПНЩ, найбільшу активність виявляв ресвератрол, за умов використання якого спостерігалося зниження даного показника – до –72,7 % (р < 0,01). Протилежна спрямованість дії спостерігалась у групі, що отримувала пірацетам (+35,8 %, р < 0,01).

Показник ЛПВЩ, який характеризує антиатерогенний ефект, підвищувався в діапазоні від 11,3 % (р < 0,05) до 53,3 % (р < 0,01) після введення ЕПГ, ЕЛМ, ЕММ та ЕЛГ, а також ресвератролу (табл. 1). Можна констатувати, що введення ресвератролу супроводжувалось зниженням рівня атерогенних ліпопротеїнів на тлі зростання вмісту антиатерогенних. Використання ЕЛМ, ЕММ, ЕЛГ, а також пірацетаму сприяло статистично значущому – в діапазоні від 35,4 % (р < 0,01) до 42,2 % (р < 0,01) – зниженню рівня ТГ (табл. 1).

Розраховано метаболічний індекс [Ройтберг Г. Е. и др., 2014], який застосовується у клінічних та епідеміологічних дослідженнях для непрямої оцінки ІР, що лежить в основі розвитку МС [Warner D. S., Warner M. A., 2008]. Характерним для групи тварин з еквівалентом МС було суттєве зростання значення метаболічного індексу (+54,5 %, р < 0,01), що, ймовірно, свідчило про розвиток ІР в умовах експерименту. Введення досліджуваних засобів в різній мірі сприяло зниженню метаболічного індексу: ЕММ (−56,8 %, р < 0,01) > ЕЛМ (−56,3 %, р < 0,01) > ЕЛК (−49,6 %, р < 0,01) > ЕПГ (−49,0 %, р < 0,01) > ЕЛГ (−44,6 %, р < 0,001) > ресвератрол (−40,5 %, р < 0,05) > пірацетам (−37,6 %, р < 0,05).

Отже, експериментальний МС характеризується надлишковою масою тіла, гіперглікемією та атерогенною дисліпідемією. Водночас досліджувані засоби мають гіпоглікемічний ефект, сприяють зниженню метаболічного індексу та в різному ступені відновлюють показник ліпідного обміну.

*Порівняльний аналіз впливу ресвератролу, фітоекстрактів та екстракту маточного молочка на вільнорадикальне окиснення ліпідів, білків та активність СОД в сироватці крові щурів з метаболічним синдромом.* Згідно з отриманими результатами МС у щурів супроводжувався активацією процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) ліпідів, білків і пригніченням активності системи антиоксидантного захисту (САОЗ) у сироватці крові водночас із зростанням вмісту МДА (+50,9 %, р < 0,01) та збільшенням рівня маркерів ОМБ, яке виявлялося зростанням у сироватці крові щурів концентрації АФГ (+15,8 %, р < 0,05) та КФГ (+15,5 %, р < 0,05). Характерно, що на тлі активації процесів ПОЛ та ОМБ у щурів з експериментальним МС спостерігалося одночасне зниження активності ключового ферменту антиоксидантного захисту – СОД в 1,32 разу (р < 0,05) у порівнянні з групою інтактних тварин (табл. 2).

*Таблиця 2*

**Вплив досліджуваних засобів на активність процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, стан системи антиоксидантного захисту та вміст продуктів окисної модифікації білка в сироватці крові щурів на тлі метаболічного синдрому, M ± m (n = 6)**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Групи тварин | СОД  од/мг білка | МДА  нМоль/мг білка | АФГ  у.од/г білка | КФГ  у.од/г білка |
| 1. | Група контролю | 0,88 ± 0,072 | 0,84 ± 0,057 | 3,64 ± 0,152 | 7,27 ± 0,155 |
| 2. | Модель МС | 0,60 ± 0,060\* | 1,27 ± 0,083\*\* | 4,22± 0,148\* | 8,40 ± 0,359\* |
| 3. | МС + пірацетам, 500 мг/кг | 0,65 ± 0,033\* | 0,98 ± 0,042# | 3,85 ± 0,153 | 7,85 ± 0,193 |
| 4. | МС + ресвератрол, 20 мг/кг | 0,75 ± 0,065 | 0,86 ± 0,038## | 3,96± 0,218 | 7,94 ± 0,323 |
| 5. | МС + екстракт листя кропиви дводомної, 1,5 мл/кг | 0,66 ± 0,032\* | 1,00 ± 0,036# | 3,81 ± 0,088 | 7,85± 0,194 |
| 6. | МС + екстракт листя малини звичайної, 1,5 мл/кг | 0,40± 0,026\*\*# | 0,88 ± 0,065# | 3,67 ± 0,256 | 7,23 ± 0,105# |
| 7. | МС + екстракт листя горіху волоського, 1,5 мл/кг | 0,55 ± 0,060\* | 0,90 ± 0,046## | 3,77 ± 0,091 | 7,61 ± 0,155 |
| 8. | МС + екстракт плодів горобини звичайної, 1,5 мл/кг | 0,63 ± 0,084 | 0,73 ± 0,025## | 3,67 ± 0,174 | 7,17 ± 0,134# |
| 9. | МС + екстракт маточного молочка, 1,5 мл/кг | 1,00 ± 0,125# | 0,96 ± 0,046# | 3,60 ± 0,136# | 7,62 ± 0,224 |

Примітки: \*–р < 0,05; \*\* – р < 0,01 щодо показників групи контролю (інтактних тварин);

#–р < 0,05; ##–р < 0,01 щодо показників групи тварин з індукованим метаболічним синдромом.

Велика кількість доказів свідчить про тісний зв’язок МС, хронічного системного запалення і окиснювального стресу [Bonomini F., 2015]. Численні запальні маркери корелюють з маркерами ІР та ожирінням [Трошина И. А. и др., 2009]. Порушення про- / антиоксидантного балансу в крові є наслідком високого токсичного навантаження в умовах МС [Ведунова М. В. и др., 2008].

Курсове введення тваринам з експериментальним МС засобів рослинного походження та продукту бджільництва у вигляді екстрактів знижує прояви оксидативного та карбонільного стресу, які активізувалися за умов вживання високофруктозного розчину (табл. 2). Причому всі досліджувані засоби здатні пригнічувати перебіг реакцій ВРО ліпідів та білків.

Так, щодо раннього маркера деструкції білкових молекул – АФГ, виразна активність спостерігалася при введенні ЕММ та, меншою мірою, інших досліджуваних засобів щодо вмісту КФГ, статистично значущу активність виявили лише ЕПГ та ЕЛМ. Характерно, що ЕММ сприяв збільшенню активності у сироватці крові СОД. Згідно з отриманими даними найбільш ефективним засобом є ЕММ, що знижує активність процесів ВРО та сприяє зростанню активності САОЗ (табл. 2).

Отже, в умовах відтворення МС відмічається розвиток оксидативного та карбонільного стресу в сироватці крові. ЕММ, ЕПГ та ресвератрол знижують вміст продуктів ПОЛ та ОМБ на тлі збільшення активності СОД.

*Дослідження впливу ресвератролу та екстрактів на мнестичні функції, рухово-дослідницьку активність та прояви депресивності у щурів з метаболічним синдромом.* Гіперпродукція вільних радикалів, обумовлена гіперглікемією і збільшенням кількості субстрату для окиснення на тлі зниження активності САОЗ. Це призводить до утворення окислених форм ліпідів, які залучені у патогенез МС і сприяють розвитку і прогресуванню його ускладнень [Грибкова И. А., 2010; Донцов А. В., 2013].

Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що перебіг МС, ініційованого тривалим вживанням високофруктозного розчину, супроводжується пригніченням локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності тварин у тесті «відкрите поле», погіршенням процесів навчання в тесті УРПУ та сприяє розвитку депресивної поведінки. Так, у тесті «відкрите поле» зареєстровано істотне погіршення показників поведінкових реакцій у тварин з експериментальним МС, що характеризувалось зниженням горизонтальної рухової активності (ГРА) (−72,5 %, р < 0,01), вертикальної рухової активності (ВРА) (−57,9 %, р < 0,05) та кількості заглядань в отвори (−53,7 %, р < 0,05) щодо групи контролю. Відомо, що пригнічення ГРА та ВРА свідчить про активацію гальмівних процесів у ЦНС тварин. Водночас встановлено, що введення досліджуваних засобів на тлі вживання високофруктозного розчину позначилося на показниках поведінкових реакцій таким чином: ГРА достовірно зростала від 66,7 % (р < 0,01) до 229,6 % (р < 0,001), ВРА − від 75,9 % (р < 0,01) до 275,0 % (р < 0,001), кількість заглядань в отвори − від 10,5 % (р < 0,05) до 210,5 % (р < 0,001). Вплив досліджуваних засобів на ці показники був виражений значно більше, ніж вплив препарату порівняння пірацетаму. Найбільш активними в даному тесті виявились ЕЛК та ЕПГ. Зазначені зміни рухової активності можуть бути пов’язані з антиоксидантними властивостями досліджуваних засобів і додатково можуть свідчити про їх вплив на вищі когнітивні процеси [Bratoeva K. et al., 2010; Lima G.P.P. et al., 2014; Liu S. et al., 2015].

У тесті УРПУ з’ясовано, що у групі щурів з МС латентний період через 24 години був на 42,8 % (р < 0,05) нижчим такого у тварин контрольної групи (табл. 3). Водночас досліджувані засоби здатні пом’якшувати розвиток когнітивного дефіциту у щурів за умов експериментального МС.

Отримані результати свідчать, що за даних умов найбільш виразний вплив на процеси пам’яті мають ЕММ та ЕПГ (табл. 3). Так, за умов терапії ЕММ кількість тварин з набутим рефлексом була більшою за аналогічний показник у тварин з індукованим МС на 150 % (р < 0,05), водночас КАа становив 138,9 %. Введення ЕПГ сприяло суттєвому зростанню числа тварин з набутим рефлексом у 2,25 разу (р < 0,05) порівняно з тваринами з модельною патологією, а КАа при цьому становив 128,4 %. Наступними за антиамнестичним потенціалом були ресвератрол та пірацетам. Менш виразну активність проявили ЕЛК, ЕЛГ та ЕЛМ, які сприяли оптимізації процесів вводу інформації, однак показники їхньої ефективності не досягали рівня статистичної значущості (табл. 3).

*Таблиця 3*

**Вплив апі- та фітоекстрактів на процеси навчання в тесті УРПУ**

**у щурів з метаболічним синдромом, M ± m (n = 10)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| №п/п | Умови експерименту | Латентний період, секунди | | КАа, % |
| вихідний | через 24 години |
| 1. | Група контролю | 13,6 ± 1,75 | 151,6 ± 18,94 | − |
| 2. | Модель МС | 18,8 ± 3,22 | 86,8 ± 25,49\* | − |
| 3. | МС + пірацетам, 500 мг/кг | 16,0 ± 1,42 | 153,2 ± 17,88# | 98,9 |
| 4. | МС + реcвератрол, 20 мг/кг | 14,4 ± 2,55 | 164,7 ± 15,30# | 117,6 |
| 5. | МС + екстракт листя кропиви дводомної, 1,5 мл/кг | 17,1 ± 1,88 | 135,0 ± 22,93 | 71,3 |
| 6. | МС + екстракт листя малини звичайної, 1,5 мл/кг | 18,0 ± 1,98 | 104,3 ± 25,41 | 26,1 |
| 7. | МС + екстракт листя горіху волоського, 1,5 мл/кг | 17,1 ± 3,07 | 122,8 ± 23,58# | 53,9 |
| 8. | МС + екстракт плодів горобини звичайної, 1,5 мл/кг | 15,3 ± 1,36 | 173,2 ± 6,8# | 128,4 |
| 9. | МС + екстракт маточного молочка, 1,5 мл/кг | 14,7 ± 2,06 | 180,0 ± 0,00# | 139,0 |

Примітки: \* – р < 0,05 щодо показників групи контролю (інтактних щурів);

#–р < 0,05 щодо показників групи тварин з індукованим метаболічним синдромом.

При визначенні впливу досліджуваних засобів на прояви депресивності у тесті Порсолта встановлено зростання поведінкового відчаю щурів з індукованим МС. Відзначалося збільшення сумарного часу іммобілізації (+30,0 %, р < 0,05), зростання кількості «зависань» (+9,1 %, р < 0,05) та зменшення кількості спроб вибратися з циліндру (−54,6 %, р < 0,05), що свідчило про депресивний стан тварин.

За умов вживання переважної більшості досліджуваних засобів достовірно збільшувалась кількість спроб вибратися з циліндру і тривалість активного плавання, тобто відмічалось стимулювання активної поведінки уникнення стресової ситуації. ЕЛК, ЕММ та ресвератрол не лише статистично значуще збільшували показники клімбінгу, а й зменшували тривалість іммобілізації та кількість «зависань» і, таким чином, перешкоджали розвитку поведінкового відчаю.

Отже, перебіг МС супроводжується пригніченням локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності тварин, погіршенням процесів запам’ятовування та розвитком депресивної поведінки. За умов введення більшості досліджуваних засобів відмічається підвищення локомоторної та дослідницької активності тварин, послаблення когнітивного дефіциту та пригнічення розвитку поведінкового відчаю.

*Дослідження впливу ресвератролу та екстрактів з найбільшим нейротропним ефектом на ВРО та рівень стабільних метаболітів оксиду азоту у корі великих півкуль головного мозку щурів з метаболічним синдромом*. У щурів з фруктозоіндукованим МС спостерігалась активація процесів ліпопероксидації та ОМБ у клітинах кори півкуль головного мозку, що супроводжувалась зростанням рівнів МДА (+131,3 %, р < 0,01), АФГ (+80,8 %, р < 0,05) і КФГ (+170,6 %, р < 0,01). Водночас у даній групі мало місце зниження активності СОД (−50,5 %, р < 0,05) і зростання вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту (+64,7 %, р < 0,01). З’ясовано, що ресвератрол, а також ЕПГ та ЕММ знижують прояви оксидативного стресу. Підвищення активності САОЗ та зниження вмісту основних маркерів зростаючої активності процесів ВРО у головному мозку, відмічалися при застосуванні ЕПГ та ЕММ. Істотне зниження вмісту МДА, АФГ та КФГ на тлі відсутності впливу на активність СОД також спостерігалося в результаті введення ресвератролу, що підтверджує його виразні антирадикальні властивості.

Отже, в умовах експериментального МС у гомогенаті кори головного мозку щурів розвивається оксидативний, карбонільний та нітрозативний стрес, що виявляється у накопиченні продуктів ПОЛ, ОМБ, NOx, та виснажуються антиоксидантні системи. На тлі введення ресвератролу, ЕПГ та ЕММ відмічали зменшення активності реакцій ВРО, що супроводжуються активацією антиоксидантної системи в структурах головного мозку.

*Гістоморфометричий аналіз показників тканин головного мозку щурів з метаболічним синдромом та при використанні досліджуваних засобів.* Експериментально встановлено, що в групі щурів з МС спостерігалися зміни клітинного складу фронтальної кори головного мозку, які носили дегенеративно-деструктивний характер. Водночас на тлі виявлених у неокортексі змін у порівнянні з групою інтактних щурів спостерігалося зниження питомої щільності нейронів (−26,1 %, p < 0,05), а також зростання кількості апоптотично- та деструктивно змінених клітин (+74,5 %, p < 0,05) (рис. 1). З’ясовано, що ЕММ чинить виразнішу захисну дію щодо нейронів та глії за умов експериментального МС (рис. 1).

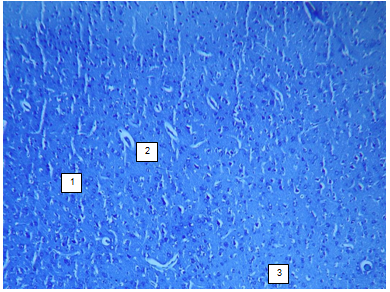
Рис. 1.Відсоткове співвідношення апоптотично- і деструктивно змінених нейронів на тлі метаболічного синдрому та за умов введення ресвератролу, екстрактів маточного молочка та плодів горобини.

Примітки: \* – р < 0,05 щодо показників групи контролю (інтактних тварин);

# – р < 0,05 щодо показників групи тварин з індукованим метаболічним синдромом.

Як свідчать результати гістологічного аналізу, вживання високофруктозного розчину впливає на структуру гемомікроциркуляторного русла, що виявляється периваскулярним набряком, потовщенням стінок судин, зменшенням їх просвіту, ознаками стазу та є морфологічним підґрунтям для зниження інтенсивності мозкового кровообігу. Низький рівень мозкового кровообігу найбільше серед інших факторів МС (абдомінальне ожиріння, високий рівень триацилгліцеридів) асоційований зі зниженням функції пам’яті [Birdsill A. C. et al., 2013]. Морфологічні ознаки розладів гемомікроциркуляторного русла у щурів, яким вводили ЕММ, у порівнянні з іншими засобами, найбільшою мірою наближені до показників інтактних тварин і виявлялися у вигляді помірного порушення цілісності судинної стінки та периваскулярного набряку (рис. 2).

За умов моделі МС у зонах СА1 та СА3 гіпокампу щурів спостерігається помірний набряк нейропілю та дезорганізація і часткове спустошення нейрональних шарів, що призводило до зменшення чисельної щільності нервових клітин у СА1 (−20,1 %, p < 0,05) та СА3 (−44,7 %, p < 0,05) зонах у порівнянні з інтактними тваринами. Кількість апоптотично- та деструктивно змінених нейронів у цій групі більша, ніж у групі контролю, у 2,3 разу (p < 0,05) у СА1 зоні та у 2,7 разу (p < 0,05) у СА3 зоні. У полях гіпокампу щурів, яким вводили ЕММ, спостерігається впорядковане та щільне розташування нейрональних шарів пірамідних клітин, що виявляється достовірним зростанням чисельної щільності нейронів на 20,1% (p < 0,05) у СА1 та на 48,7 % (p < 0,05) у СА3 зонах гіпокампу. Причому кількість апоптотично- та деструктивно змінених нейронів у даній групі наближається до рівня інтактних тварин та є нижчою від значень групи МС на 48,0 % (p < 0,05) та 56,4% (p < 0,05) у СА1 та СА3 зонах відповідно**.** Пошкодження нейроглії в умовах застосування ЕММ також є найменшим у порівнянні з іншими групами, а нейрогліальний індекс у СА3 зоні на 22,5% (p < 0,05) менший за такий у групі МС (рис. 2).

Рис. 2. Ділянка фронтальної кори головного мозку щурів із метаболічним синдромом на тлі введення екстракту маточного молочка.

Чисельні гіпохромні нейрони (1), перивазальний набряк (2), поодинокі некробіотично змінені гліоцити (3). Забарвлення метиленовим синім-азуром ІІ. ×200.

Отже, перебіг фруктозоіндукованого МС у щурів призводить до істотних порушень нейронального апарату неокортексу та гіпокампу, змін мікроциркуляторного русла гіпокампу. При цьому ЕММ більшою мірою забезпечує захист нейронів та відновлення структури гемомікроциркуляторного русла.

При статистичному аналізі результатів групи тварин з індукованим МС виявлено два прямі кореляційні зв’язки. Перший – між рівнем загального холестерину в сироватці крові та іммобільністю тварин у тесті Порсолта (r = 0,93, p < 0,01), що може свідчити про взаємозв’язок дисліпідемії з проявами депресивності тварин на тлі МС. Другий – між рівнем тригліцеридів та значеннями горизонтальної рухової активності в тесті «відкрите поле» (r = 0,91, p < 0,05), що, в свою чергу, також вказує на зв'язок проявів дисліпідемії з порушеннями поведінкових реакцій. Можна припустити, що дисліпідемія відіграє більш значну роль, ніж гіперглікемія, в процесі розвитку порушень ЦНС у тварин з індукованим метаболічним синдромом. Водночас, прямі кореляційні зв’язки між маркерами оксидативного стресу, обміном ліпідів, глюкози та порушеннями ЦНС не виявляли однозначних закономірностей і тим самим не дали змоги повною мірою визначити механізми виявлених фармакологічних ефектів фітоекстрактів, ресвератролу та ЕММ за умов порушень ЦНС, викликаних МС. З цього можна зробити висновок, що механізми дії можуть мати інший характер, зумовлений наявністю широкого спектру біологічно активних речовин у складі цих засобів, а фармакологічна активність фітоекстрактів та ЕММ за умов експериментального МС потребує подальшого поглибленого вивчення.

Завдяки використанню однофакторного дисперсійного аналізу з залученням критерію Дункана для множинного порівняння встановлено, що ресвератрол найбільшою мірою сприяє зниженню рівня ЛПНЩ і підвищенню ЛПВЩ, а також зростанню обстежень отворів. У свою чергу ЕММ сприяє зниженню вмісту ТГ та АФГ, підвищенню активності СОД, а також метаболічного індексу та іммобільності в тесті примусового плавання. За умов введення ЕПГ найбільша активність спрямована на зменшення вмісту глюкози, МДА, КФГ, проявів депресивності в тесті примусового плавання, а також значного зростання рухової активності тварин у тесті «відкрите поле».

Таким чином, завдяки широкому спектру досліджень встановлено, що екстракти ЕММ, ЕПГ та ресвератрол окрім гіпоглікемічної, гіполіпідемічної та антиоксидантної дії виявляють виражену нейропротекторну активність, мають мнемотропний ефект та поєднані з позитивним впливом на прояви депресивності у тварин.

**ВИСНОВКИ**

У дисертаційній роботі наведено порівняльний аналіз фармакологічної активності засобів природного походження, а також експериментально-теоретичне обґрунтування застосування апі- та фітотерапевтичних засобів за умов порушень ЦНС на тлі метаболічного синдрому.

1. Метаболічний синдром є важливим фактором розвитку порушень ЦНС. Його перебіг призводить до розвитку оксидативного та карбонільного стресу, а також декомпенсації системи антиоксидантного захисту у ЦНС, що сприяє патологічним змінам нейронального апарату та мікроциркуляторного русла головного мозку та супроводжується порушеннями пам’яті, поведінкових реакцій та депресивною поведінкою. Доведено, що досліджені апі- та фітоекстракти перспективні для фармакологічної нейропротекції завдяки широкому спектру дії на тлі метаболічного синдрому.

2. Курсове введення пропіленгліколевих екстрактів листя малини, кропиви та ресвератролу знижує ризик прогресування метаболічного синдрому у щурів, покращує глікемічний контроль і ліпідний спектр. Екстракт листя кропиви дводомної знижує рівень глюкози на 36,2 %, екстракт листя малини звичайної підвищує на 20,8 % рівень антиатерогенних ліпопротеїнів (ХС ЛПВЩ), а ресвератрол знижує на 72,7 % вміст атерогенних ліпопротеїнів (ХС ЛПНЩ) на тлі зростання на 53,3 % антиатерогенних ліпопротеїнів.

3. Експериментальна корекція метаболічного синдрому ресвератролом, екстрактами плодів горобини звичайної, листя малини, листя горіху, листя кропиви і маточного молочка сприяє зниженню активності процесів вільнорадикального окиснення. Зазначені засоби знижують вміст продуктів ПОЛ та ОМБ у сироватці крові. Найбільш виразні властивості виявляє екстракт маточного молочка, який знижує рівень МДА на 24,4 %, АФГ на 14,6 % та на 66,3 % підвищує активність СОД.

4. Курсове використання у тварин з метаболічним синдромом ресвератролу, а також екстрактів плодів горобини звичайної та маточного молочка покращує пам'ять, підвищує орієнтовно-дослідницьку активність і чинить антидепресивну дію. Так, екстракт плодів горобини звичайної статистично значущо збільшує вертикальну рухову активність у 2,8 разу, горизонтальну рухову активність – у 3,8 разу, а ресвератролу підвищує дослідницьку активність у 3,1 разу. Кількість амнезованих тварин знижується на 60 % при введенні екстракту маточного молочка. Тривалість активного плавання та кількість спроб вибратися з води підвищує ЕЛК дводомної у 1,7 разу та у 2,8 разу відповідно.

5. Ресвератрол, екстракти горобини та маточного молочка знижують прояви оксидативного стресу в корі великих півкуль головного мозку. Виразніший антиоксидантний ефект є характерним для екстракту маточного молочка, що виявляється зростанням активності СОД у 4,6 разу, зниженням рівнів МДА на 50,6 %, АФГ на 45,1 %, КФГ на 55,9 %. Сумарний рівень нітритів та нітратів найбільше знижується при введенні ресвератролу – на 46,9 %.

6. Метаболічний синдром призводить до суттєвих змін нейронів та гліоцитів, порушень мікроциркуляції у неокортексі та гіпокампі щурів. Екстракт маточного молочка зменшує набряк і число апоптотично- та деструктивно змінених нейронів у СА1 та СА3 зонах гіпокампу на 52,0 % та 43,5 % відповідно.

7. Пропіленгліколеві екстракти плодів горобини та маточного молочка завдяки сприятливому спектру фармакологічної активності при метаболічному синдромі, а також виразному нейропротекторному потенціалу обґрунтовують доцільність подальших досліджень задля створення нових лікарських засобів та впровадження їх у медичну практику.

**Список праць, опублікованих за темою дисертації**

1. Мархонь Н. О. Фармакологічна характеристика ресвератролу / В. Й. Мамчур, Н. О. Мархонь // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 4 (29). – С. 3–9. *(Особистий внесок дисертанта: аналіз, систематизація та узагальнення літературних даних, підготовка статті до друку)*
2. Порівняльний аналіз експериментальних підходів у відтворенні метаболічного синдрому / Н. О. Мархонь, В. Й. Мамчур, В. І. Жилюк, А. Е. Лєвих // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – № 1 (117). – С. 156–162. *(Особистий внесок дисертанта: аналіз, систематизація та узагальнення літературних даних, проведення експерименту, статистична обробка даних, узагальнення результатів, формулювання висновків і подальших перспектив, оформлення статті до друку)*
3. Морфологічний аналіз впливу резвератролу на стан нейронів та глії у неокортексі щурів з метаболічним синдромом / Н. О. Мархонь, В. Й. Мамчур, В. І. Жилюк, Н. С. Петрук // Морфологія. – 2015. – № 9 (2). – С. 42–48. *(Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних даних, статистична обробка даних, узагальнення результатів, формулювання висновків і подальших перспектив, оформлення статті до друку)*
4. Effect of Piracetam, Resveratrol and propylene glycol extract of Royal jelly on behavioral functions and markers of oxidative stress in rats with metabolic syndrome / V. Mamchur, V. Zhylyuk, A. Lievykh, N. Marкhon // The Pharma Innovation Journal. – 2015. – № 4 (8). – Р. 72–76. *(Особистий внесок дисертанта: аналіз, систематизація та узагальнення літературних даних, проведення експерименту, статистична обробка даних і узагальнення результатів, підготовка статті до друку)*
5. Аналіз впливу пропіленгліколевих екстрактів лікарських рослин та маточного молочка на прояви оксидативного стресу та стан системи антиоксидантного захисту в крові щурів із метаболічним синдромом / Н. О. Мархонь, В. І. Жилюк, В. Й. Мамчур, А. Е. Лєвих // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2015. – Т. 19, № 2. – С. 334–338. *(Особистий внесок дисертанта: аналіз, систематизація та узагальнення літературних даних, проведення експерименту, статистична обробка даних, узагальнення результатів, формулювання висновків і подальших перспектив, оформлення статті до друку)*
6. Стан процесів вільнорадикального окиснення у неокортексі щурів з метаболічним синдромом за умов застосування резвератролу та пропіленгліколевих екстрактів горобини та маточного молочка / Н. О. Мархонь, В. І. Жилюк, В. Й. Мамчур, А. Е. Лєвих // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2016. – № 2 (48). – С. 60–66. *(Особистий внесок дисертанта: аналіз, систематизація та узагальнення літературних даних, проведення експерименту, статистична обробка даних і узагальнення результатів, підготовка статті до друку)*
7. Мархонь Н. О. Психотропна активність ресвератролу та пропіленгліколевих екстрактів природнього походження в умовах поведінкових тестів у щурів з експериментальним метаболічним синдромом / Н. О. Мархонь / Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – № 2, Т. 1 (128). – С. 70–74.
8. Особливості змін ліпідограми крові щурів з метаболічним синдромом за умов експериментальної фармакотерапії екстрактом плодів горобини звичайної та ресвератролом / Н. О. Мархонь, В. І. Жилюк, А. Е. Лєвих, В. Й. Мамчур // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2017. – № 2 (53). – С. 69–75. *(Особистий внесок дисертанта: аналіз, систематизація та узагальнення літературних даних, проведення експерименту, статистична обробка даних і узагальнення результатів, підготовка статті до друку)*
9. Застосування пропіленгліколевого екстракту плодів горобини звичайної за умов метаболічного синдрому (експериментальне дослідження): інформаційний лист. – Вип. 14 з проблеми «Фармакологія» / Н. О. Мархонь, В. Й. Мамчур, В. І. Жилюк, А. Е. Лєвих // Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров’я № 355-2015. – Київ : Укрмедпатентінформ, 2015. – 4 с. *(Особистий внесок дисертанта: проведення експерименту, статистична обробка отриманих даних)*
10. Мархонь Н. О. Вивчення гіпоглікемічної дії пропіленгліколевих екстрактів рослин / В. Й. Мамчур, Н. О. Мархонь // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Інтеграція народної і нетрадиційної медицини в первинну медико-санітарну допомогу». – Київ, 2012. – С. 38.
11. Мархонь Н. А. К вопросу о метаболическом синдроме / Н. А. Мархонь, В. И. Мамчур // Materiály IX mezinárodni vědecko-praktická konference «Moderni vymoženosti vědy – 2013». – Dil 54. Lekarstvi. – Praha, 2013. – S. 24–26.
12. Мархонь Н. О. Вплив пірацетаму та ресвератролу на біохімічні маркери за умов експериментального метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою / В. Й. Мамчур, Н. О. Мархонь, А. Е. Лєвих // Медична хімія. – 2014. – Т. 16, № 4 (61). – С. 105.
13. Мархонь Н. О. Вплив резвератролу та пропіленгліколевого екстракту горобини на поведінкову активність щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / Н. О. Мархонь, А. Е. Лєвих, В. І. Жилюк // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції «Нове у медицині сучасного світу». – Львів, 2014. – С. 83–84.
14. Мархонь Н. О. Вплив пропіленгліколевих екстрактів горіху та горобини на біохімічні маркери в умовах експериментального метаболічного синдрому / В. Й. Мамчур, Н. О. Мархонь, А. Е. Лєвих // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках». – Київ, 2014. – С. 115–116.
15. Мархонь Н. О. Морфологічні зміни нервових клітин неокортексу щурів в умовах експериментального метаболічного синдрому / Н. О. Мархонь, А. Е. Лєвих // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції **«Актуальні питання розвитку медичних наук у ХХІ ст.». – Львів, 2015. – С. 120–121.**
16. Markhon N. A. Preventive effect of Raspberry (Rubus idaeus) against oxidative stress in rats with metabolic syndrome / N. A. Marкhon, V. I. Zhylyuk , E. Yu. Prokhorova // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна медицина: актуальні проблеми, шляхи вирішення та перспективи розвитку». – Одеса, 2015. – С. 17–19.
17. Мархонь Н. О. Морфологічний аналіз гемомікроциркулярного русла щурів за умов експериментального метаболічного синдрому в умовах застосування пропіленгліколевого екстракту горобини / Н. О. Мархонь, В. Й. Мамчур, В. І. Жилюк // Український біофармацевтичний журнал. – 2015. – № 5 (40). – С. 54–55.
18. Вплив апі- та фітоантиоксидантів на основні показники метаболічного синдрому, поведінкову активність щурів та морфологічні зміни в головному мозку / н. о. Мархонь, В. Й. Мамчур, В. і.жилюк, І. І. Кононова // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Теорія та практика сучасної морфології». – Дніпро, 2016. – С. 101–103.
19. Markhon N. A. Propylene glycol extract of Royal jelly alleviates depression-like behavior in rats with experimental metabolic syndrome / N. A. Marкhon // Матеріали четвертої науково-практичної конференції «Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування». – Київ, 2016. – С. 17.
20. Мархонь Н. О. Вплив ресвератролу на показники атерогенності в крові щурів з метаболічним синдромом / Н. О. Мархонь, В. І. Жилюк // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, пам’яті професора В. В. Дунаєва «Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології». – Запоріжжя, 2016. – С. 57.

**АНОТАЦІЯ**

**Мархонь Н. О. «Нейрофармакологічна активність фітоекстрактів та екстракту маточного молочка за умов експериментального метаболічного синдрому» –** Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ, 2017.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню нейропротекторних та антиоксидантних властивостей пропіленгліколевих екстрактів природного походження в умовах індукованого фруктозою метаболічного синдрому.

Встановлено, що пропіленгліколевий екстракт листя кропиви знижує рівень глікемії, зменшує вміст продуктів ПОЛ та ОМБ в сироватці крові. Для ресвератролу характерним є зниження рівня ХС ЛПНЩ на фоні зростання рівня ХС ЛПВЩ, а також, так само як і для екстрактів плодів горобини і маточного молочка, покращання пам’яті за тестом умовної реакції пасивного уникнення, підвищення орієнтовно-дослідницької активності у тесті «Відкрите поле» та антидепресивний ефект у тесті Порсолта. Визначено, що дія цих засобів має виразніший характер, ніж дія пірацетаму.

З’ясовано, що ресвератрол, екстракт плодів горобини та маточного молочка чинять нейропротекторну дію, що супроводжується пригніченням процесів ПОЛ та посиленням антиоксидантного захисту (активність СОД), а також нітрозативного стресу в головному мозку.

Експериментально продемонстровано позитивний вплив екстракту плодів горобини на морфофункціональний стан нейронів та глії, а екстракту маточного молочка – на гемомікроциркуляторне русло гіпокампу.

*Ключові слова:* метаболічний синдром,екстрактматочного молочка, екстракт плодів горобини, ресвератрол, нейропротекторна дія.

**АННОТАЦИЯ**

**Мархонь Н.А. «Нейрофармакологическая активность фитоэкстрактов и экстракта маточного молочка в условиях экспериментального метаболического синдрома» –** Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – ГУ «Институт фармакологи и токсикологи НАМН Украины», Киев, 2017.

Диссертационная работа посвящена актуальной проблеме экспериментальной фармакологии – исследованию антиоксидантных и нейропротекторных свойств пропиленгликолевых экстрактов природного происхождения в условиях экспериментального метаболического синдрома.

Для выполнения поставленных задач были применены фармакологические, биохимические, физиологические, морфологические методы исследования. Работа выполнена на 154 белых крысах-самцах.

Полученные результаты свидетельствуют, что исследуемые средства способствуют снижению уровня глюкозы, метаболического индекса и в разной степени – восстановлению показателей липидного обмена. Так, экстракты листьев крапивы, плодов рябины, маточного молочка, листьев малины, а также ресвератрол в наибольшей степени проявляют гипогликемическую активность и нормализуют метаболический индекс. Экстракт маточного молочка и экстракт листьев крапивы способствуют замедлению процессов роста массы тела крыс.

В условиях введения ресвератрола, экстрактов листьев малины и ореха отмечается улучшение показателей липидного спектра в антиатерогенном направлении. При этом ресвератрол способствует более выраженному снижению ХС ЛПНП на фоне роста ХС ЛПВП. Таким образом, ресвератрол и исследуемые экстракты благоприятно влияют на основные звенья нарушений обмена веществ в условиях модели МС.

Показано, что исследуемые препараты в разной степени влияют на интегративные функции мозга. Определено, что ноотропное действие апи- и фитоэкстрактов имеет более выраженный характер, чем действие пирацетама. Так, ресвератрол, экстракт плодов рябины и экстракт маточного молочка повышают антиамнестическую активность, стимулируют ориентировочно-исследовательскую активность и оказывают антидепрессивный эффект. В тесте «Открытое поле» наибольшая двигательная активность выявлена в условиях введения экстракта плодов рябины, исследовательская активность – ресвератрола. В тесте УРПИ установлено, что экстракт маточного молочка достоверно увеличивает число обученных животных, способствует повышению латентного периода входа животных в темный отсек камеры. В тесте Порсолта в группе, получавшей экстракт листьев крапивы, отмечено снижение иммобильности, увеличение времени активного плавания и количества попыток выбраться из цилиндра, что указывает на высокий уровень антидепрессивного действия препарата. Таким образом, исследуемые препараты нормализуют нарушения когнитивных функций, моторики и неврологический дефицит у крыс на модели метаболического синдрома.

В условиях коррекции метаболического синдрома ресвератролом, экстрактами маточного молочка и исследуемых растений установлено снижение интенсивности процессов свободнорадикального окисления. Ресвератрол, экстракты маточного молочка и плодов рябины ограничивают деструктивное действие оксидативного стресса, которое сопровождается снижением накопления нейротоксичных продуктов ОМБ – альдегид- и кетонфенилгидразонов, ПОЛ – малонового диальдегида, повышением активности антиоксидантного фермента – СОД в сыворотке крови. Наибольшую активность в отношении показателей СРО проявляет экстракт маточного молочка.

Вместе с тем имеет значение и ограничение апоптоза, защита от нейродеструктивных процессов, что, очевидно, способствует нормализации гистоструктуры и восстановлению основных показателей углеводного и липидного обмена.

Установлено, что нейропротекторное действие ресвератрола, экстрактов плодов рябины и маточного молочка сопровождается нормализацией прооксидантно-антиоксидантного баланса в коре больших полушарий головного мозга. Нормализация показателей совпадает с заметным улучшением морфологической картины в очаге повреждения мозга.

Характерными для МС были существенные изменения нейронов и глии СА1 и СА3 зон гиппокампа, сопровождающиеся нарушением микроциркуляции. Экстракты маточного молочка и плодов рябины активируют биосинтетические процессы и уменьшают отек и число апоптотически и деструктивно измененных нейронов СА1 зоны гиппокампа в условиях эксперимента.

Экспериментально продемонстрировано положительное влияние экстракта плодов рябины обыкновенной на морфофункциональное состояние нейронов, глии и синаптического аппарата в гиппокампе и коре больших полушарий у крыс, а экстракта маточного молочка – на гемомикроциркуляторное русло гиппокампа.

*Ключевые слова:* метаболический синдром,экстрактматочного молочка, экстракт плодов рябины, ресвератрол, нейропротекторное действие.

**SUMMARY**

**Markhon N. A. «Neuropharmacological activity of phyto-extracts and royal jelly extract under the condition of experimental metabolic syndrome» –** Manuscript.

Thesis to obtain the academic degree of Candidate of Biological Sciences in speciality 14.03.05 – pharmacology. **–** State Institution “Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, 2017.

The thesis is devoted to study of neuroprotective and antioxidant properties of propylene glycol extracts of natural origin under conditions of fructose induced metabolic syndrome.

It was shown that propylene glycol extract of leaves of nettle reduces blood glucose level, levels of products of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins in serum. Resveratrol caused reduction in LDL cholesterol with underlying increase in HDL cholesterol; as well as extracts of rowan fruits and royal jelly, it also has profound effects on memory in passive avoidance test, raising orienting and research activity in open field test, and has antidepressant property in Porsolt test. It was established that the effects of those extracts are more pronounced than the effect of piracetam.

It was found that resveratrol, extracts of rowan fruits and royal jelly have neuroprotective effects, that accompanied by inhibition of lipid peroxidation processes and increased antioxidant defense (activity of SOD), as well as nitrosative stress in the brain.

Positive effects of rowan fruit extract on a morphofunctional state of neurons and glia and of royal jelly extract – on hippocampus hemomicrocirculation channel were demonstrated experimentally.

*Keywords:* metabolic syndrome, extract of royal jelly, extract of rowan fruits, resveratrol, neuroprotective effect.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

|  |  |
| --- | --- |
| АФГ | – альдегідфенілгідразони |
| БАР | – біологічно активні речовини |
| ВРА | – вертикальна рухова активність |
| ВРО | – вільнорадикальне окиснення |
| ГРА | – горизонтальна рухова активність |
| ГТТ | – глюкозотолерантний тест |
| ЗХС | – загальний холестерин |
| ЕЛГ | – екстракт листя горіху |
| ЕЛК | – екстракт листя кропиви |
| ЕЛМ | – екстракт листя малини |
| ЕММ | – екстракт маточного молочка |
| ЕПГ | – екстракт плодів горобини |
| ІР | – інсулінорезистентність |
| КАа | – коефіцієнт антиамнестичної активності |
| КФГ | – кетонфенілгідразони |
| ЛП | – латентний період |
| ЛПВЩ | – ліпопротеїни високої щільності |
| ЛПНЩ | – ліпопротеїни низької щільності |
| МДА | – малоновий діальдегід |
| МС | – метаболічний синдром |
| ОМБ | – окиснювальна модифікація білків |
| ПГЕ | – пропіленгліколеві екстракти |
| ПОЛ | – перекисне окиснення ліпідів |
| CАОЗ | – система антиоксидантного захисту |
| СОД | – супероксиддисмутаза |
| ТГ | – тригліцериди |
| УРПУ | – умовна реакція пасивного уникнення |
| ХС ЛПВЩ | – холестерин ліпопротеїнів високої щільності |
| ХС ЛПНЩ | – холестерин ліпопротеїнів низької щільності |
| ЦНС | – центральна нервова система |
| CA1 | – пірамідна зона гіпокампу |
| СА3 | – пірамідна зона гіпокампу |
| NO | – оксид азоту |
| NOx | – сумарний рівень нітритів і нітратів |

Підписано до друку 27.09.2017 р. формат 60Х 90/16

Умовних друкар., арк.., 0,9. Обл. – вид., арк.., 0,9. Друк ризографія.

Тираж 100 пр. Замовлення № 79.

Надруковано ВТК «Друкар» ДЗ « ДМА МОЗ України»

М. Дніпро, пл.. Соборна, 4.