

4
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ

<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

Saiga tatarica Linnaeus, 1758

Сайга

Чибилёв А.А.



2021

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ОРЕНБУРГСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-056.52

Е.Р. Гатиатулина¹, В.С. Полякова², О.Н. Немерешина², Е.В. Попова³,
А.А. Никоноров⁴, А.В. Скальный^{5,6}, А.А. Тиньков^{5,7}

ВЛИЯНИЕ ВОДНЫХ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ РОДА *PLANTAGO* НА РАЗВИТИЕ АЛИМЕНТАРНОГО ОЖИРЕНИЯ И НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

¹ ФГБНУ Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений, 117216, Москва, ул. Грина, д. 7, Россия

² ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России, 460001, Оренбург, ул. Советская, д. 6, Россия

³ Университет Святого Иосифа в Танзании (St. Joseph University in Tanzania), Brigitta Campus, Танзания

⁴ ФГБУ Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии, 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6

⁵ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, Россия

⁶ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119435, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1, Россия

⁷ ФГБОУ ВО Ярославский Государственный Университет им. П.Г. Демидова, 150003, Ярославль, ул. Советская, д. 14, Россия (tinkov.a.a@gmail.com)

Цель. Целью настоящего исследования явилось изучение влияния водных экстрактов листьев трех видов *Plantago* (*P. major*, *P. lanceolata* и *P. maxima*) на развитие ожирения и неалкогольной жировой болезни печени, индуцированных содержанием животных на высокожировом высокоуглеводном рационе.

Материалы и методы. 64 крысы-самки линии Wistar распределены на 8 групп, из которых первая содержалась на стандартной диете (СТД) и являлась контролем, тогда как вторая получала высокожировую высокоуглеводную диету (ВЖВУД) с целью моделирования ожирения. Животные III, V и VII групп содержались на СТД, при этом получая в качестве питьевой воды экстракты листьев *P. major*, *P. lanceolata* и *P. maxima*, соответственно. При этом крысы IV, VI и VIII групп получали ВЖВУД на фоне поступления в организм экстрактов *P. major*, *P. lanceolata* и *P. maxima*, соответственно. По окончании эксперимента проводились морфометрические измерения, гистологическое исследование печени, определение маркеров обмена углеводов и липидов, а также оценка содержания ванадия в печени и жировой ткани.

Результаты. Установлено, что поступление в организм экстрактов *Plantago* на фоне ВЖВУД не предотвращает избыточную кумуляцию жировой ткани. В то же время, употребление экстрактов *P. major* и *P. maxima* достоверно снижало степень стеатоза печени, о чем свидетельствует снижение площади липидных капель в гепатоцитах как в центроlobулярной, так и перипортальной зонах. Наряду с этим, экстракты *P. major* и *P. maxima* приводили к достоверному снижению индекса инсулинорезистентности НОМА-IR, увеличение которого отмечалось при моделировании ожирения. Поступление в организм экстрактов *Plantago* на фоне ВЖВУД также предотвращало ожирение-ассоциированное увеличение концентрации общего холестерина. Данные изменения сопровождалось увеличением уровня ванадия в печени, причем поступление экстракта *P. major* в организм также приводило к увеличению кумуляции ванадия в жировой ткани.

Заключение. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о протективном эффекте экстрактов *P. maxima* и *P. major* в отношении развития ожирение-ассоциированной неалкогольной жировой болезни печени и инсулинорезистентности, что

может быть обусловлено ролью растений рода *Plantago* в качестве источника широкого спектра фитохимических соединений, а также биодоступного ванадия.

Ключевые слова: ожирение, неалкогольная жировая болезнь печени, подорожники (*Plantago*), инсулинорезистентность, ванадий.

E.R. Gatiatulina¹, V.S. Polyakova², O.N. Nemereshina², E.V. Popova³,
A.A. Nikonorov⁴, A.V. Skalny^{5,6}, A.A. Tinkov^{5,7}

THE IMPACT OF AQUEOUS EXTRACTS OF *PLANTAGO* LEAVES ON DEVELOPMENT OF DIET-INDUCED OBESITY AND NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

¹ All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), Grina St., 7, Moscow, 117216, Russia

² Orenburg State Medical University, Sovetskaya St., 6, Orenburg, 460000, Russia

³ St. Joseph University in Tanzania, Brigitta Campus, Tanzania

⁴ State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Korolenko St., 3, Bldg 6, Moscow, 107076, Russia

⁵ Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Miklukho-Maklay St., 6, Moscow, 117198, Russia

⁶ IM Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Bolshaya Pirogovskaya St., 6-1, Moscow, 119435, Russia

⁷ P.G. Demidov Yaroslavl State University, Sovetskaya St., 15, Yaroslavl, 150003, Russia

Objective. The objective of the present study was to evaluate the impact of aqueous extracts of three *Plantago* species (*P. major*, *P. lanceolata* and *P. maxima*) on development of diet-induced obesity and non-alcoholic fatty liver disease in animals.

Materials and methods. 64 female Wistar rats were divided into 8 groups. The first group was maintained on standard diet (STD) being controls, whereas the second group was fed a high fat high carbohydrate diet (HFHCD) used for development of obesity. Animals of the III, V, and VII groups were maintained at STD and obtained *P. major*, *P. lanceolata* and *P. maxima* extracts, respectively. At the same time, rats from the IV, VI and VIII groups were fed HFHCD while obtaining the above mentioned *Plantago* extracts, respectively. At the end of the experiment, assessment of animal morphometry, serum markers of carbohydrate and lipid metabolism, tissue vanadium content, as well as histological examination of liver was performed.

Results. The obtained data demonstrate that administration of *Plantago* extracts does not prevent body adiposity in rats. At the same time, consumption of *P. major* and *P. maxima* reduced liver steatosis as evidenced by reduced size of lipid droplets in hepatocyte cytoplasm both in centrilobular and periportal areas. At the same time, *P. major* and *P. maxima* extracts reduced insulin resistance index HOMA-IR that was found to be elevated in HFHCD-fed rats. Administration of *Plantago* extracts also prevented obesity-associated increase in serum total cholesterol. The observed effects were accompanied by a significant accumulation of vanadium in liver of all *Plantago*-fed rats, whereas *P. major* extract consumption also resulted in a significant increase in adipose tissue vanadium content.

Conclusion. Therefore, the results of the present study demonstrate efficiency of *P. maxima* and *P. major* extracts against development of obesity-associated non alcoholic fatty liver disease and insulin resistance, that may be mediated by phytochemical constituents or bioavailable vanadium from *Plantago* extracts.

Key words: obesity, non-alcoholic fatty liver disease, *Plantago*, insulin resistance, vanadium.

Введение

Сегодня ожирение рассматривается в качестве неинфекционной пандемии, затрагивающей практически 2 млрд человек в мире [1]. При этом медицинская значимость ожирения обусловлена его патогенетической связью с инсулинорезистентностью, дислипидемией, а также артериальной гипертензией, объединенных в симптомокомплекс «метаболический синдром», одним из локальных проявлений которого является неалкогольная жировая болезнь печени [2]. Несмотря на наличие препаратов для лечения ожирения, подавляющее большинство из них характеризуется значительным количеством побочных эффектов [3]. В связи с этим поиск и разработка средств патогенетической профилактики и коррекции ожирения и ожирение-ассоциированных метаболических нарушений является актуальным вопросом практического здравоохранения.

Фитохимические соединения и богатые ими экстракты лекарственных растений рассматриваются в качестве возможных средств для профилактики и лечения ожирения вследствие наличия у них не только антиоксидантной и противовоспалительной, но и инсулиносенсibiliзирующей, гиполипидемической и адипотропной активностей [4]. Помимо этого, антидиабетический эффект ряда лекарственных растений может быть обусловлен содержанием в них эссенциальных химических элементов с инсулиномиметической активностью [5]. Также отмечается протективное действие полифенольных соединений в отношении ожирение-ассоциированной неалкогольной жировой болезни печени (НЖБП) [6].

Растения рода *Plantago* (Подорожники) используются в течение столетий для лечения заболеваний дыхательной системы, пищеварительного тракта, мочеполовой системы, а также заживления ран [7], что обусловлено фитохимическим спектром экстрактов, включающих иридоиды, флавоноиды, танины и другие соединения [8]. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что извлечения из растений рода *Plantago* проявляют выраженный противовоспалительный и антиоксидантный эффект, слабую антибиотическую активность, антиульцерогенное, иммуностимулирующее и анальгетическое действие [9]. В ходе ранее проведенных исследований продемонстрировано, что экстракты *Plantago* обладают протективным эффектом в отношении алиментарного ожирения [10, 11]. Учитывая роль воспалительной реакции в патогенезе НЖБП, а

также взаимосвязь последней с ожирением и сахарным диабетом 2 типа [12], справедливо предположить, что экстракты *Plantago* могут проявлять протективную активность в отношении ожирение-ассоциированного стеатогепатоза. Вместе с тем, данные относительно эффективности извлечений из различных растений рода *Plantago* в отношении ожирения и ожирение-ассоциированных метаболических нарушений недостаточны.

В этой связи целью настоящего исследования явилось изучение влияния водных экстрактов листьев трех видов *Plantago* (*P. major*, *P. lanceolata* и *P. maxima*) на развитие ожирения и неалкогольной жировой болезни печени, индуцированных содержанием животных на высокожировом высокоуглеводном рационе.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование проведено в соответствии с «Правилами проведения работ и использования экспериментальных животных», и одобрено локальным этическим комитетом. В исследовании использованы 64 крысы самки линии Wistar в возрасте 10 недель. Перед включением в эксперимент животные проходили акклиматизацию к лабораторным условиям в течение 2 недель. На протяжении всего эксперимента средняя температура в виварии составила $22 \pm 2^\circ\text{C}$ при 12-часовом световом дне (8:00 – 20:00).

Дизайн эксперимента. Животные были распределены на 8 групп по 8 животных с равной массой тела в каждой. Первая (I) группа животных получала стандартную диету (СТД) с энергетической ценностью 270 ккал/100 г (10% калорий за счет жиров) и чистую питьевую воду, таким образом являясь контролем. Вторая (II) группа животных содержалась при этом на высокожировом рационе с энергетической ценностью 429 ккал/100 г (60% калорий за счет жиров), а также получала в 10% раствор сахарозы (40 ккал/100 г), что характеризует высокожировую высокоуглеводную диету (ВЖВУД) для моделирования ожирения (Никоноров с соавт., 2013). Животные III, V и VII групп содержались на СТД, при этом получая в качестве питьевой воды экстракты листьев *Plantago major* L. (*P. major*-СТД), *Plantago lanceolata* L. (*P. lanceolata*-СТД), and *Plantago maxima* Juss. ex Jacq. (*P. maxima*-СТД), соответственно. Крысы IV, VI и VIII групп получали ВЖВУД на фоне поступления в организм экстрактов *Plantago major* L. (*P. major*-ВЖВУД), *Plantago lanceolata* L. (*P. lanceolata*-ВЖВУД) и *Plantago maxima* Juss. ex Jacq. (*P.*

maxima-ВЖВУД), соответственно. Все группы животных имели свободный доступ к питьевым растворам и пище на протяжении всей длительности эксперимента, составляющей 8 недель.

Растительное сырье. Образцы листьев *Plantago major* L., *Plantago lanceolata* L., and *Plantago maxima* Juss. ex Jacq. Были собраны в период цветения в степном Приуралье (с. Каменноозерное, Оренбургская область, 51° 46' 29.33" N, 55° 33' 52.37"E). Собранные листья растений подвергались высушиванию в темном помещении при интенсивной вентиляции и температуре воздуха +20-25°C. После высушивания, образцы листьев измельчались и хранились до использования в бумажных пакетах.

Экстракты изготавливались с использованием чистой бутилированной питьевой воды. В частности, 10 г измельченных листьев вносились в 560 мл воды и нагревались на водяной бане, доведенной до кипения, в течение 30 минут. После остывания, полученные экстракты отфильтровывались для удаления твердых частиц. Экстракты листьев *Plantago* изготавливались ежедневно и вносились в поилки для животных без предварительного разведения питьевой водой.

Оценка морфометрических параметров и получение биообразцов. По завершении эксперимента оценивалась масса и длина (от носа до анального отверстия) тела каждого животного. Также проводилось измерение окружности груди (ОГ) и живота (ОЖ) непосредственно за передней и перед задней лапами, соответственно. Величины ОГ и ОЖ использована для определения соотношения ОЖ/ОГ.

Путем срединной лапаротомии получали доступ к внутренним органам брюшной полости и забрюшинного пространства. В частности, проводилось извлечение и взвешивание околоматочной, параовариальной и ретроперитонеальной жировой ткани с последующей оценкой суммарной массы висцеральной жировой ткани. Также из указанного доступа осуществлялось извлечение печени лабораторных животных с ее последующим взвешиванием и получением образца для гистологического исследования.

Образцы крови, отобранной из яремной вены лабораторных животных, подвергались центрифугированию при 3000 об в течение 10 минут для получения сыворотки крови. Образцы сыворотки отбирались в пластиковые про-

бирки типа Эппендорф и хранились при температуре -18°C непосредственно до анализа.

Гистологический анализ. Образцы срединной доли печени лабораторных животных фиксировались в нейтральном формалине с последующим заключением в парафиновые блоки. Блоки нарезались на микротоме для получения срезов толщиной 5 мкм и их последующего окрашивания гематоксилином и эозином согласно стандартной методике. Ультраструктура печени оценивалась в центролобулярной и перипортальной зонах. Микроскопирование и микрофотосъемка проводились с использованием микроскопа ЛОМО Микмед-6 (ЛОМО, Россия), оснащенного цифровой фотокамерой. Оценка площади поперечного сечения ядер и липидных включений гепатоцитов осуществлялась с использованием программного пакета ImageJ software (NIH, Bethesda, MD, USA).

Биохимический анализ. Определение в сыворотке крови концентрации глюкозы, общего белка, липидов, холестерина и ТАГ осуществлялось спектрофотометрически с использованием наборов реактивов (Ольвекс, Санкт-Петербург, Россия). Оценка концентрации инсулина в сыворотке производилась методом иммуноферментного анализа с использованием набора Alpcо (Alpcо Diagnostics, Windham, USA) на планшетном фотометре. Полученные данные о концентрации глюкозы и инсулина в сыворотке крови использовались для расчета индекса инсулинорезистентности HOMA-IR в соответствии со стандартной формулой $\text{HOMA-IR} = (\text{глюкоза} \times \text{инсулин}) / 22,5$. Анализ концентрации общих липидов в сыворотке крови проводился с использованием соответствующего набора Lachema (Lachema, Brno, Czech Republic).

Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС). Полученные в ходе аутопсии образцы печени и жировой ткани орошались стерильной дистиллированной водой для удаления сгустков крови. Помимо этого, из образцов жировой ткани удалялись крупные сосуды. Непосредственно перед анализом осуществлялась пробоподготовка, включающая микроволновое разложение биообразцов в присутствии азотной кислоты в системе Berghof SW-4 DAP-40 (Berghof Products & Instruments, Германия). Определение содержания ванадия в образцах осуществлялось методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на приборе Nexion 300D (Perkin Elmer Inc., США).

Статистический анализ. Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием программного пакета Statistica 10.0 (Statsoft, USA). Оценка характера распределения данных осуществлялась с использованием критерия Шапиро-Уилка. Данные представлены в виде средней и соответствующего стандартного отклонения, а также медианы и границ межквартильного интервала для данных, характеризующихся нормальным и отличным от нормального распределением, соответственно. Оценка достоверности групповых отличий осуществлялась с использованием однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA). Данные, не характеризующиеся Гауссовым распределением, подвергались предварительной log-трансформации для достижения log-нормального распределения. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования продемонстрировали, что содержание животных на ВЖВУД сопровождалось достоверным увеличением морфометрических характеристик, таких как масса тела, печени, а также соотношение ОЖ/ОГ на 26, 25 и 9%, соответственно. При этом количество жировой ткани характеризовалось более чем втрое увеличением, что свидетельствует об успешном моделировании ожирения (табл. 1).

Таблица 1. Морфометрические параметры лабораторных животных при воздействии экстрактов *Plantago* на фоне стандартной и высокожировой диет

Группа	Вес, г	ОЖ/ОГ	ЖТ сумм, г	Печень, г
СТД	273 ± 23	1,15 ± 0,07	8,14 ± 3,12	9.2 ± 0.5
ВЖВУД	344 ± 35 ¹	1,25 ± 0,08 ¹	27,19 ± 4,63 ¹	11.5 ± 1.7 ¹
<i>P. major</i> -СТД	277 ± 28	1,14 ± 0,03	8,27 ± 2,17	9.1 ± 1.3
<i>P. major</i> -ВЖВУД	334 ± 29 ¹	1,19 ± 0,04	26,25 ± 4,06 ¹	11.2 ± 1.6 ¹
<i>P. lanceolata</i> -СТД	265 ± 23	1,13 ± 0,03	6,96 ± 2,36	9.4 ± 1.5
<i>P. lanceolata</i> -ВЖВУД	306 ± 24 ^{1,2}	1,23 ± 0,07 ¹	24,91 ± 7,76 ¹	10.7 ± 2.4 ¹
<i>P. maxima</i> -СТД	265 ± 28	1,12 ± 0,04	8,81 ± 3,02	9.1 ± 0.9
<i>P. maxima</i> -ВЖВУД	314 ± 54 ¹	1,21 ± 0,09 ¹	25,11 ± 5,69 ¹	10.6 ± 1.8
^{1,2} – различия по сравнению с группой контроля (СТД) и моделирования ожирения (ВЖВУД) достоверны при $p < 0,05$ по данным one-way ANOVA, соответственно.				

Из представленных в таблице 1 данных следует, что введение животным на фоне стандартного рациона экстрактов растений рода *Plantago* не

приводило к сколько-нибудь значимым изменениям морфометрических показателей. В то же время, поступление в организм животных, содержащихся на адипогенной диете, экстракта *P. lanceolata* сопровождалось достоверным снижением массы тела относительно группы моделирования ожирения на 11%. Кроме того, достоверное ожирение-ассоциированное увеличение значений ОЖ/ОГ существенно предотвращалось употреблением экстракта *P. major*. В свою очередь, поступление в организм экстракта *P. maxima* на фоне воздействия ВЖВУД сопровождалось снижением массы печени на 8% относительно группы моделирования ожирения, предотвращая ожирение-ассоциированное увеличение данного параметра.

В связи с достоверным влиянием экстрактов на массу печени проведен гистологический анализ ультраструктуры печени. Сколько-нибудь значимых отличий среди групп животных, содержащихся на СТД, выявлено не было. В то же время, воздействие высокожирового высокоуглеводного рациона приводило к значительным изменениям структуры печени, характеризующимся крупноклеточным стеатозом и набуханием цитоплазмы гепатоцитов как в центролобулярной (рис. 1а), так и перипортальной (рис. 1е) зонах.

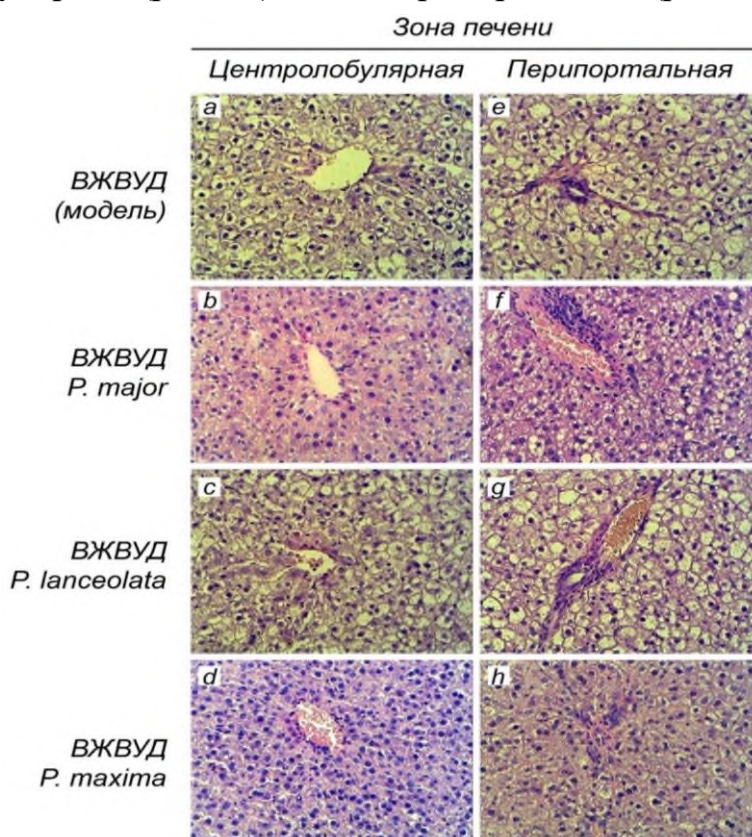


Рис. 1. Микрофотографии препаратов центролобулярной и перипортальной зон печени лабораторных животных, содержащихся на ВЖВУД, на фоне поступления в организм экстрактов *Plantago*.

В печени животных, содержащихся на ВЖВУД, на фоне применения экстракта *P. major* отмечалось снижение интенсивности стеатоза, что характеризовалось наличием как крупных, так и мелких липидных включений в цитоплазме гепатоцитов (рис. 1b–1f). Вместе с тем, сколько-нибудь значимых эффектов применение экстракта *P. lanceolata* на фоне приема ВЖВУД выявлено не было (рис. 1c–1g). Поступление экстракта *P. maxima* в организм животных, содержащихся на адипогенной диете, сопровождалось снижением выраженности стеатоза с преобладанием мелких липидных включений (рис. 1d–1h).

Результаты цитометрии продемонстрировали достоверное влияние экстрактов *Plantago* на размер липидных включений (табл. 2).

Таблица 2. Влияние воздействия различных диет и экстрактов *Plantago* на площадь поперечного сечения (мкм²) ядер и липидных капель в цитоплазме гепатоцитов центролобулярной (ЦЗ) и перипортальной (ПЗ) зон печени

Группа	Ядра		Липидные капли	
	ЦЗ	ПЗ	ЦЗ	ПЗ
СТД	84 (72 - 98)	88 (73 - 100)	—	—
ВЖВУД	63 (54 - 76) ¹	62 (52 - 75) ¹	88 (54 - 143)	101 (58 - 198)
<i>P. major</i> -СТД	74 (60 - 83) ¹	78 (66 - 84) ¹	—	—
<i>P. major</i> -ВЖВУД	75 (61 - 85) ^{1,2}	74 (62 - 84) ^{1,2}	63 (36 - 125) ²	62 (36 - 133) ²
<i>P. lanceolata</i> -СТД	82 (76 - 87)	82 (72 - 92) ¹	—	—
<i>P. lanceolata</i> -ВЖВУД	62 (52 - 72) ¹	63 (54 - 72) ¹	90 (53 - 169)	175 (108 - 264)
<i>P. maxima</i> -СТД	78 (62 - 88) ¹	82 (68 - 94) ¹	—	—
<i>P. maxima</i> -ВЖВУД	73 (61 - 83) ^{1,2}	66 (56 - 76) ^{1,2}	65 (43 - 111) ²	46 (23 - 103) ²
^{1,2} – различия по сравнению с группой контроля (СТД) и моделирования ожирения (ВЖВУД) достоверны при $p < 0,05$ по данным one-way ANOVA, соответственно; «—» - в группах животных на стандартном рационе липидные включения не визуализируются.				

В частности, в центролобулярной зоне печени поступление в организм экстрактов листьев *P. major* и *P. maxima* на фоне ВЖВУД сопровождалось достоверным снижением площади липидных включений на 28 и 26% по сравнению с группой моделирования ожирения, соответственно. В перипор-

тальной зоне печени животных данных групп размер липидных включений был на 39 и 54% ниже по сравнению с группой моделирования. Несмотря на то, что поступление в организм экстракта *P. lanceolata* не приводило к сколько-нибудь значимым изменениям размера липидных включений в цитоплазме гепатоцитов в центрлобулярной зоне, в перипортальной зоне было выявлено увеличение площади липидных капель на 75% относительно соответствующих значений в группе животных, содержащихся на ВЖВУД.

Также был охарактеризован размер ядер гепатоцитов (табл. 2). Моделирование ожирения посредством содержания животных на ВЖВУД сопровождалось достоверным снижением площади поперечного сечения ядер гепатоцитов на 25 и 29% в центрлобулярной и перипортальной зонах относительно контрольных значений, соответственно. Поступление в организм животных экстрактов листьев *P. major* и *P. maxima* на фоне ВЖВУД сопровождалось увеличением площади поперечного сечения ядер относительно ВЖВУД-контрольных значений на 19 и 16%, соответственно; аналогичное увеличение в перипортальной зоне составило 26 и 6%, соответственно. В свою очередь, употребление экстракта *P. lanceolata* животными, содержащимися на ВЖВУД, не сопровождалось сколько-нибудь значимыми изменениями площади поперечного сечения ядер гепатоцитов.

С использованием сыворотки крови лабораторных животных проведен анализ маркеров метаболизма углеводов (табл. 3). Так, установлено, что моделирование ожирения посредством содержания животных на ВЖВУД сопровождалось достоверным увеличением концентрации глюкозы, инсулина, а также значений индекса инсулинорезистентности НОМА на 41%, а также в 2,6 и 5 раз, соответственно. Несмотря на то, что на фоне приема экстрактов листьев *Plantago* животными, содержащимися на ВЖВУД, не отмечалось достоверных отличий в концентрации глюкозы от группы моделирования ожирения, поступление экстрактов предотвращало достоверное ожирение-ассоциированное увеличение данного показателя; аналогично, употребление экстрактов предотвращало достоверное увеличение концентрации инсулина в сыворотке крови, однако достоверное снижение относительно группы животных, содержащихся на ВЖВУД, составляющее 42%, было отмечено лишь при приеме экстракта *P. major*. В свою очередь, достоверное снижение индекса инсулинорезистентности НОМА-IR относительно группы моделирова-

ния ожирения было выявлено лишь на фоне поступления в организм экстрактов *P. major* и *P. maxima*, составляя 58 и 37%, соответственно.

Таблица 3. Влияние моделирования ожирения и поступления в организм экстрактов растений рода *Plantago* на маркеры метаболизма углеводов

Группа	Глюкоза, ммоль/л	Инсулин, мМЕ/л	НОМА-IR
СТД	11,21 (8,44 - 11,79)	0,75 (0,46 - 0,95)	0,282 (0,209 - 0,38)
ВЖВУД	15,78 ¹ (13,88 - 18,01)	1,95 ¹ (1,69 - 4,53)	1,397 ¹ (0,974 - 2,635)
<i>P. major</i> -СТД	10,83 (6,83 - 14,26)	0,71 (0,47 - 1,06)	0,242 (0,215 - 0,45)
<i>P. major</i> -ВЖВУД	15,37 (7,48 - 16,98)	1,12 ² (0,735 - 2,43)	0,583 ² (0,493 - 1,021)
<i>P. lanceolata</i> -СТД	11,72 (7,71 - 12,58)	1,78 (0,9 - 1,9)	0,643 ¹ (0,54 - 0,935)
<i>P. lanceolata</i> -ВЖВУД	13,17 (11,48 - 15,9)	1,355 (1,04 - 1,46)	0,839 (0,745 - 0,954)
<i>P. maxima</i> -СТД	13,44 (8,59 - 16,32)	0,94 (0,69 - 1,74)	0,377 (0,263 - 1,262)
<i>P. maxima</i> -ВЖВУД	13,16 (10,23 - 17,56)	1,26 (1,01 - 2,7)	0,869 ² (0,737 - 1,006)
^{1,2} – различия по сравнению с группой контроля (СТД) и моделирования ожирения (ВЖВУД) достоверны при $p < 0,05$ по данным one-way ANOVA, соответственно.			

Сывороточная концентрация общего белка в группе моделирования ожирения характеризовалась достоверным увеличением на 35% по сравнению с контрольными значениями, тогда как уровни общих липидов, холестерина, а также ТАГ были выше таковых в контрольной группе более чем в 2,5, 2 и 5 раз, соответственно (табл. 4). Применение на фоне ВЖВУД экстрактов *P. major*, *P. lanceolata* и *P. maxima* предотвращало достоверное ожирение-ассоциированное повышение концентрации общего белка, при этом снижая значения данного показателя относительно группы моделирования ожирения на 37, 10 и 28%, однако данные отличия не являлись достоверными. Интересно, что снижение концентрации общих липидов и общего холестерина в сыворотке крови относительно группы моделирования ожирения отмечалось лишь в группах крыс, получающих экстракты *P. lanceolata* и *P. maxima* на фоне ВЖВУД, составляя 10% и 46%, соответственно. Несмотря на практически двукратное снижение концентрации ТАГ в сыворотке крови на фоне по-

ступления *P. major* и *P. maxima* относительно таковой в группе моделирования ожирения, данные отличия не являлись достоверными.

Таблица 4. Концентрация общего белка, липидов, холестерина и триглицеридов у лабораторных животных на фоне моделирования ожирения и приема экстрактов *Plantago*

Группа	Белок, г/л	Липиды, г/л	ОХС, ммоль/л	ТАГ, ммоль/л
СТД	95,3 (75 - 103,8)	1,275 (1,114 - 1,611)	1,473 (1,3 - 2,022)	1,412 (0,887 - 1,501)
ВЖВУД	128,7 ¹ (102,2 - 132,5)	3,087 ¹ (2,121 - 3,973)	3,144 ¹ (2,641 - 3,961)	6,444 ¹ (4,238 - 6,779)
<i>P. major</i> -СТД	84,3 (51,2 - 108)	1,409 (1,128 - 1,638)	1,617 (1,049 - 1,932)	1,423 (0,998 - 2,615)
<i>P. major</i> -ВЖВУД	80,6 (66,1 - 128,7)	3,651 ¹ (1,315 - 4,671)	1,625 (1,265 - 3,308)	3,03 ¹ (2,064 - 5,504)
<i>P. lanceolata</i> -СТД	92,2 (69,3 - 94,7)	1,396 (1,181 - 1,557)	1,713 (1,306 - 1,96)	1,687 (0,604 - 2,623)
<i>P. lanceolata</i> -ВЖВУД	115,7 (93,2 - 149,2)	2,497 ^{1,2} (1,289 - 2,819)	2,226 (1,595 - 3,099)	4,412 ¹ (2,52 - 4,77)
<i>P. maxima</i> -СТД	92,4 (84,4 - 112,8)	1,302 (1,181 - 1,342)	1,444 (1,196 - 2,182)	1,948 (1,396 - 1,997)
<i>P. maxima</i> -ВЖВУД	92,5 (75,2 - 104,4)	2,282 ¹ (1,691 - 2,604)	1,713 ² (1,359 - 2,085)	3,251 ¹ (2,827 - 5,117)
^{1,2} – различия по сравнению с группой контроля (СТД) и моделирования ожирения (ВЖВУД) достоверны при $p < 0,05$ по данным one-way ANOVA, соответственно.				

Результаты ИСП-МС анализа печени лабораторных животных представлены в таблице 5.

Таблица 5. Содержание ванадия (нг/г) в печени и жировой ткани животных при моделировании ожирения и воздействии экстрактов *Plantago*

Группа	Печень	Жировая ткань
СТД	5,0 (4,3 - 5,7)	0,1 (0,1 - 0,6)
ВЖВУД	4,6 (2,9 - 5,5)	0,1 (0,1 - 0,9)
<i>P. major</i> -СТД	9,6 ¹ (7,4 - 13,0)	0,7 ¹ (0,5 - 0,8)
<i>P. major</i> -ВЖВУД	6,5 ² (5,6 - 8,8)	1,2 ¹ (0,6 - 1,5)
<i>P. lanceolata</i> -СТД	7,6 ¹ (7,6 - 7,8)	0,9 ¹ (0,9 - 1,5)
<i>P. lanceolata</i> -ВЖВУД	8,6 ² (6,8 - 13,0)	0,5 (0,5 - 0,5)
<i>P. maxima</i> -СТД	12,0 ¹ (11,0 - 16,0)	0,9 ¹ (0,8 - 1,1)
<i>P. maxima</i> -ВЖВУД	10,5 ² (10,0 - 14,0)	0,7 (0,5 - 0,7)
^{1,2} – различия по сравнению с группой контроля (СТД) и моделирования ожирения (ВЖВУД) достоверны при $p < 0,05$ по данным one-way ANOVA, соответственно		

Полученные данные свидетельствовали, что поступление в организм экстрактов *P. major*, *P. lanceolata*, а также *P. maxima* на фоне ВЖВУД сопровождается достоверным увеличением содержания ванадия на 40, 80 и 120% по сравнению с соответствующими показателями в группе моделирования ожирения. В то же время, лишь поступление в организм экстракта листьев *P. major* приводило к достоверному 12-кратному увеличению содержания ванадия в жировой ткани по сравнению с таковым в группе животных, содержащихся на ВЖВУД.

Таким образом, результаты проведенного исследования продемонстрировали, что экстракты *P. major* и *P. maxima* обладают протективным эффектом в отношении эктопической кумуляции липидов и, как следствие, гепатостеатоза, что может являться следствием инсулиномиметической активности экстрактов. Помимо этого, одним из механизмов реализации биологического эффекта экстрактов *Plantago* может являться повышение уровня ванадия в тканях организма.

Содержание животных на ВЖВУД сопровождалось достоверным увеличением массы жировой ткани, что согласуется с эффективностью данной модели ожирения [13]. Вместе с тем, отмечалось увеличение массы печени, набухание цитоплазмы гепатоцитов и крупноклеточный стеатоз, что свидетельствует о развитии НЖБП [14], являющейся локальным проявлением метаболического синдрома. Эктопическая кумуляция липидов при этом ассоциирована с дисфункцией жировой ткани и инсулинорезистентностью [15], что согласуется с выявленным увеличением концентрации глюкозы, инсулина и повышением индекса инсулинорезистентности НОМА-IR. Наблюдаемое уменьшение размеров ядер гепатоцитов при этом характеризует их дисфункцию [16] как следствие липотоксичности [17].

Наблюдаемый протективный эффект экстрактов *Plantago* при алиментарном ожирении и стеатогепатозе может быть обусловлен содержанием биологически-активных фитохимических соединений, таких как флавоноиды, иридоиды и танины [18, 19]. С одной стороны, учитывая роль окислительного стресса в патогенезе ожирения и НЖБП, антиоксидантное действие полифенольных фитохимических соединений и особенно танинов [20] может обуславливать наблюдаемый гепатопротекторный эффект. Помимо этого, полифенолы также оказывают стимулирующее влияние на антиоксидант-

ную систему организма посредством активации фактора транскрипции Nrf2 [21, 22]. В этой связи, обоснованным представляется наиболее выраженное протективное действие в случае *P. maxima*, характеризующегося наибольшим содержанием полифенолов [19].

Наряду с влиянием на редокс-гомеостаз организма, различные классы фитохимических соединений, содержащиеся в экстрактах листьев растений рода *Plantago*, оказывают комплексное влияние на метаболизм липидов и углеводов. Так, продемонстрировано снижение кумуляции триглицеридов в цитоплазме гепатоцитов *in vivo* и *in vitro* под влиянием как отдельных полифенолов, так и богатых полифенолами растительных экстрактов, что может быть обусловлено ингибированием ими липогенеза и активацией катаболизма жирных кислот [21, 22]. Показано, что полифенольные соединения тормозят экспрессию белка SREBP-1c (sterol regulatory element-binding protein) наряду с активацией АМФ-активируемой протеинкиназы (AMPK), являющейся ингибитором SREBP-1c и, как следствие, анаболизма липидов [21]. Таннины также тормозят развитие НЖБП посредством активации AMPK, ингибирования всасывания липидов и желчных кислот, а также торможения активации NF- κ B и последующих провоспалительных сигнальных путей [23].

Гепатопротекторный эффект экстрактов *Plantago* также может быть опосредован влиянием фитохимических соединений на чувствительность тканей к инсулину и метаболизм углеводов. В частности, воздействие флавоноидов сопровождается торможением ферментов глюконеогенеза, а также положительным влиянием на передачу сигнала через субстрат инсулинового рецептора 1 (IRS-1) [24]. Нормализация передачи сигнала инсулина под влиянием полифенолов также может быть обусловлена активацией АРМК в печени и мышечной ткани [25]. Кроме того, полифенолы активируют PPAR γ и стимулируют продукцию адипонектина, что также способствует восстановлению чувствительности тканей к инсулину [26].

Учитывая ранее продемонстрированные различия в содержании фитохимических соединений в листьях растений рода *Plantago*, справедливо предположить, что выраженный протективный эффект *P. maxima* может быть обусловлен высоким уровнем полифенолов, обладающих выраженной антиоксидантной активностью. В этой связи, выявленный протективный эффект *P. major* может быть обусловлен другими механизмами, одним из которых

является поступление ванадия в организм в целом и жировую ткань в частности, что согласуется с указаниями на роль *Plantago* в качестве источника биодоступного ванадия [27]. Результаты ранее проведенных исследований показали, что уровень ванадия в жировой ткани характеризуется выраженной обратной взаимосвязью со степенью гипертрофии жировой ткани, воспалительной реакции и инсулинорезистентности [28]. Подобный эффект обусловлен влиянием ванадия на механизмы передачи сигнала инсулина посредством воздействия на ферменты сигнального каскада инсулина [29]. Помимо этого, также показано, что ванадий способен тормозить гипертрофию адипоцитов посредством торможения экспрессии ключевых факторов транскрипции PPAR- γ и C/EBP- α [30].

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о протективном эффекте экстрактов *P. maxima* и *P. major* в отношении развития ожирение-ассоциированной неалкогольной жировой болезни печени и инсулинорезистентности, что может быть обусловлено ролью растений рода *Plantago* в качестве источника широкого спектра фитохимических соединений, а также биодоступного ванадия. В то же время, непосредственные механизмы влияния экстрактов *Plantago* на развитие ожирения и ожирение-ассоциированных метаболических нарушений требуют дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. (2020). Overweight and obesity. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Dietrich, P., Hellerbrand, C. Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome. Best practice & research Clinical gastroenterology. 2014. 28(4): 637-653. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2014.07.008>
3. Kang, J. G., Park, C. Y. Anti-obesity drugs: a review about their effects and safety. Diabetes & metabolism journal. 2012. 36(1): 13-25. <https://doi.org/10.4093/dmj.2012.36.1.13>
4. Saad, B., Ghareeb, B., Kmail, A. Metabolic and epigenetics action mechanisms of antiobesity medicinal plants and phytochemicals. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2021. 2021:9995903. <https://doi.org/10.1155/2021/9995903>
5. Ebrahim, A. M., Alnajjar, A. O., Mohammed, M. E., Idris, A. M., Mohammed, M. E., Michalke, B. Investigation of total zinc contents and zinc-protein profile in medicinal plants traditionally used for diabetes treatment. Biometals. 2020. 33(1): 65-74. <https://doi.org/10.1007/s10534-019-00230-3>
6. Echeverría, F., Bustamante, A., Sambra, V., Videla, L., Valenzuela, R. Beneficial effects of dietary polyphenols in the prevention and treatment of NAFLD: Cell-signaling pathways underlying health effects. Current Medicinal Chemistry. 2022. 29(2): 299-328.
7. Gonçalves, S., Romano, A. The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (Plantaginaceae). Industrial Crops and Products. 2016. 83: 213-226. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.038>

8. Adom, M. B., Taher, M., Mutalabisin, M. F., Amri, M. S., Abdul Kudos, M. B., Wan Sulaiman, M., Sengupta, P., Susanti, D. Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major*. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2017. 96: 348-360. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.152>
9. Chiang, L.C., Chiang, W., Chang, M.Y., Lin, C.C. In Vitro Cytotoxic, Antiviral and Immunomodulatory Effects of *Plantago major* and *Plantago asiatica*. *The American journal of Chinese medicine*. 2003. 31: 225-234. <https://doi.org/10.1142/s0192415x03000874>
10. Yoshida, T., Rikimaru, K., Sakai, M., Nishibe, S., Fujikawa, T., Tamur, Y. *Plantago lanceolata* L: leaves prevent obesity in C57BL/6 J mice fed a high-fat diet. *Natural product research*. 2013. 27: 982–987. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.704377>
11. Tinkov A.A., Nemereshina O.N., Popova E.V., Polyakova V.S., Gritsenko V.A., Nikonorov A.A. *Plantago maxima* leaves extract inhibits adipogenic action of a high-fat diet in female Wistar rats. *European journal of nutrition*. 2014. 53(3): 831-842. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0587-6>
12. Rosato, V., Masarone, M., Dallio, M., Federico, A., Aglitti, A., Persico, M. NAFLD and extra-hepatic comorbidities: Current evidence on a multi-organ metabolic syndrome. *International journal of environmental research and public health*, 2019. 16(18):3415. <https://doi.org/10.3390/ijerph16183415>
13. Никоноров А. А., Тиньков А. А., Железнов Л. М., Иванов В. В. Методический подход к изучению ожирения в эксперименте. Оренбург : ОАО «ИПК «Южный Урал», 2013. – 240 с. – ISBN 978-5-94162-090-4.
14. Brunt, E.M., Kleiner, D.E., Wilson, L.A., Belt, P., Neuschwander - Tetri, B.A., Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology*. 2011. 53: 810-820. <https://doi.org/10.1002/hep.24127>
15. Barrera, F., George, J. Non-alcoholic fatty liver disease: more than just ectopic fat accumulation. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 2013. 10(1-2): e47-e54. <https://doi.org/10.1016/j.ddmec.2013.06.002>
16. Саркисов, Д. С. Очерки по структурным основам гомеостаза. М.: Медицина. 1977: 351 С.
17. Ibrahim, S.H., Kohli, R., Gores G.J., 2011. Mechanisms of lipotoxicity in NAFLD and clinical implications. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 53(2), 131. <https://doi.org/10.1097/mpg.0b013e31822578db>
18. Zhou, Q., Lu, W., Niu, Y., Liu, J., Zhang, X., Gao, B., Akoh, C.C., Shi, H., Yu, L. Identification and quantification of phytochemical composition and anti-inflammatory, cellular antioxidant, and radical scavenging activities of 12 *Plantago* species. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2013. 61(27): 6693–6702.
19. Nemereshina, O.N., Tinkov, A.A., Gritsenko, V.A., Nikonorov, A.A. Influence of *Plantaginaceae* species on *E. coli* K12 growth in vitro: Possible relation to phytochemical properties. *Pharmaceutical Biology*. 2015. 53(5): 715-24. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.940426>
20. Bors, W., Michel, C. Chemistry of the antioxidant effect of polyphenols. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2002. 957(1): 57-69. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02905.x>
21. Rodriguez-Ramiro, I., Vauzour, D., Miniñane, A.M. Polyphenols and non-alcoholic fatty liver disease: impact and mechanisms. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 2016. 75(1): 47-60. <https://doi.org/10.1017/S0029665115004218>
22. Salomone, F., Godos, J., Zelber-Sagi, S. Natural antioxidants for non-alcoholic fatty liver disease: molecular targets and clinical perspectives. *Liver International*. 2016. 36(1): 5-20. <https://doi.org/10.1111/liv.12975>
23. Zou, B., Ge, Z.Z., Zhang, Y., Du, J., Xu, Z., Li, C.M. Persimmon tannin accounts for hypolipidemic effects of persimmon through activating of AMPK and suppressing NF-κB activa-

- tion and inflammatory responses in high-fat diet rats. *Food & function*. 2014. 5(7): 1536-46. 10.1039/c3fo60635j
24. Jung, U.J., Cho, Y.Y., Choi, M.S. Apigenin Ameliorates Dyslipidemia, Hepatic Steatosis and Insulin Resistance by Modulating Metabolic and Transcriptional Profiles in the Liver of High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*. 2016. 8(5): 305. <https://doi.org/10.3390/nu8050305>.
25. Davaatseren, M., Hur, H.J., Yang, H.J., Hwang, J.T., Park, J.H., Kim, H.J., Kim, M.J., Kwon, D.Y., Sung, M.J. Taraxacum officinalis (dandelion) leaf extract alleviates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver. *Food and chemical toxicology*. 2013. 58: 30-6. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.04.023>
26. Umeno, A., Horie, M., Murotomi, K., Nakajima, Y., Yoshida, Y. Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. *Molecules*. 2016. 21(6): 708. <https://doi.org/10.3390/molecules21060708>
27. Gatiatulina, E.R., Nemereshina, O.N., Suliburska, J., Nagaraja, T.P., Skalnaya, A.A., Nikonorov, A.A., Skalny, A.V., Tinkov, A.A. Comparative Analysis on the Effect of Plantago Species Aqueous Extracts on Tissue Trace Element Content in Rats. *Biological Trace Element Research*, 2017. 179(1): 79-90. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-0940-3>
28. Tinkov, A.A., Popova, E.V., Polyakova, V.S., Kwan, O.V., Skalny, A.V., Nikonorov, A.A. Adipose tissue chromium and vanadium disbalance in high-fat fed Wistar rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2015. 29: 176-181. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.07.006>
29. Treviño, S., Diaz, A. Vanadium and insulin: Partners in metabolic regulation. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2020. 208: 111094. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111094>
30. Gunasinghe, M.A., Kim, A.T., Kim, S.M. Inhibitory Effects of Vanadium-Binding Proteins Purified from the Sea Squirt Halocynthia roretzi on Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2019. 189(1): 49-64. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-02982-7>

Поступила 21.12.2021 г.

(Контактная информация: **Тиньков Алексей Алексеевич** – к.м.н., зав. Лабораторией экомониторинга и контроля качества Ярославского государственного университета им. П. Г. Демидова, в.н.с. Лаборатории молекулярной диетологии ПМГМУ им. И. М. Сеченова; E-mail: tinkov.a.a@gmail.com; тел.: +7-961-937-81-98 (ORCID: 0000-0003-0348-6192; ScopusID: 53265184000)

Образец ссылки на статью:

Гатиатулина Е.Р., Полякова В.С., Немерешина О.Н., Попова Е.В., Никоноров А.А., Скальный А.В., Тиньков А.А. Влияние водных экстрактов листьев растений рода *Plantago* на развитие алиментарного ожирения и неалкогольной жировой болезни печени. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2021. 4. 17 с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2021-4/Articles/GER-2021-4.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2021-14001