

Лаборатория аналитических исследований инновационных и ресурсосберегающих технологий

ГЗ № FNZM-2021-0001

«Биологически активные продукты переработки винограда функциональной направленности для применения в эноterapiи»

Срок выполнения 2021 - 2023 гг.

- * **Этап 2023:** Оценка эффективности применения экспериментальных образцов экстрактов и концентратов полифенолов из виноградного сырья (выжимка, лоза) при диет-индуцированных моделях метаболических нарушений *in vivo* - на модели экспериментальной артериальной гипертензии. Применение продукции из виноградного сырья (лоза винограда) с нормируемым количеством полифенолов для коррекции антиоксидантного уровня организма человека при функциональных нарушениях, обусловленных окислительным стрессом.

Руководитель НИР: Зайцев Г.П. – зав. лабораторией, науч. сотр., канд. тех. наук

Ответственный исполнитель:

Черноусова И.В.- вед. науч. сотр., кан. тех. наук

Исполнители: Жилиякова Т.А.- ст. науч. сотр., кан. биол. наук

Мосолкова В.Е.- мл. науч. сотр.; Гришин Ю.В.- мл. науч. сотр.

Кружкова Н.В.- мл. науч. сотр.; Олейникова В.А.- мл. науч. сотр.

Таримов К.О. - мл. науч. сотр.; Настоящий С.Г. - мл. науч. сотр.

Радковский В.А. - мл. науч. сотр.; Радковская М.С. - мл. науч. сотр.

Шевандова А.А. - мл. науч. сотр.



Цель исследований этапа 2023 года

Провести оценку эффективности применения экспериментальных образцов экстрактов и концентратов из виноградного сырья (выжимка, лоза) при диет-индуцированных моделях метаболических нарушений *in vivo*, в частности, на модели экспериментальной артериальной гипертензии. Применить продукцию из лозы винограда с нормируемым количеством полифенолов для коррекции антиоксидантного баланса уровня организма человека при функциональных нарушениях, обусловленных окислительным стрессом.

Задачи исследований на 2023 г.

3

1. Совместно с лабораторией функциональных продуктов переработки винограда производство экспериментальных партий экстракта виноградной выжимки спиртосодержащего пищевого и концентрата полифенолов лозы винограда безалкогольного пищевого для проведения исследований *in vivo* на модели экспериментальной артериальной гипертензии и клинических исследований в условиях санаторно - курортного лечения.
2. Определение физико-химических показателей экспериментальных образцов продукции: концентрата полифенолов лозы винограда безалкогольного пищевого (БКЛВ); экстракта виноградной выжимки спиртосодержащего пищевого (ЭВВ) для расчета адекватного уровня потребления продуктов для проведения исследований *in vivo* на модели экспериментальной артериальной гипертензии и клинических исследований в условиях санаторно - курортного лечения.
3. Экспериментальные исследования качественного и количественного состава суммарной концентрации полифенолов в экспериментальных образцах продукции из виноградного сырья (выжимка, лоза винограда) с целью определения адекватной суточной дозы приема экстракта и концентрата в экспериментах *in vivo*.
4. Исследования цитопротективных и антиоксидантных свойств пищевых экспериментальных образцов экстрактов и концентратов из винограда с нормируемым количеством полифенолов на модели экспериментальной артериальной гипертензии *in vivo*.
5. Применение продукции из виноградного сырья (лоза винограда) с нормируемым количеством полифенолов для коррекции антиоксидантного уровня организма человека при функциональных нарушениях, обусловленных окислительным стрессом в условиях санаторно-курортного лечения.

Новизна исследований

Впервые на экспериментальном уровне *in vivo* проведены исследования цитопротективных и антиоксидантных свойств пищевых экспериментальных образцов экстрактов и концентратов из винограда с нормируемым количеством полифенолов на модели экспериментальной артериальной гипертензии. Определены основные показатели: гемодинамические (артериальное давление (АД), морфометрия органов-мишеней (почек, сердца, надпочечников, мозга); установлен уровень сосудосуживающего пептида, эндотелина-1.

Предмет исследований

- * образец безалкогольного пищевого концентрата полифенолов лозы винограда с концентрацией фенольных веществ 9200 мг/дм³, в том числе транс-ресвератрола-708,4 мг/дм³
- * образец пищевого спиртосодержащего экстракта из виноградной выжимки с концентрацией фенольных веществ 19600 мг/дм³;
- * белые крысы – самцы линии Wistar.

Номер группы исследований	Наименование группы исследований	Количество особей
Группа 1	Контрольная	10
Группа 2	Опытная с АГ	10
Группа 3	Опытная АГ + БКЛВ	15
Группа 4	Опытная АГ + ЭВВ	15

Выдержка из Приложения 5 «Величины суточного потребления пищевых и биологически активных веществ для взрослых в составе специализированных пищевых продуктов

(СПП) и БАД к пище»

(Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)» Глава II Раздел I) адекватный уровень потребления (в сутки) составляет:

Пищевые и биологически активные компоненты пищи	Адекватный уровень потребления, мг
Транс-ресвератрол	30
Флавоноиды (флаванолы, флавонолы, антоцианы)	300
Оксикоричные кислоты	210
Оксибензойные кислоты (галловая)	100
Полимерные фенольные соединения	100

Количественный и качественный состав полифенолов в экспериментальных образцах ЭВВ, БКЛВ адекватный уровень потребления

6

Наименование показателя	ЭВВ	БКЛВ
Сумма стильбеноидов, в том числе транс-ресвератрол, мг/дм ³	-	2058,1
Флавоноиды (флаванолы, флавонолы, антоцианы), мг/дм ³	255,6	544,1
Оксибензойные кислоты (галловая) мг/дм ³	436,4	23,1
Оксикоричные кислоты, мг/дм ³	17,8	-
Олигомерные и полимерные фенольные соединения, мг/дм ³	23516,5	6642,5
Сумма полифенолов методом ВЭЖХ, мг/дм ³	24700	10200
Сумма фенольных веществ по Фолину-Чокальтеу, мг/дм ³	21600	9240
Адекватный уровень потребления, мл	33,0 в пересчете на суммарную концентрацию фенольных веществ	42,0 в пересчете на транс-ресвератрол

Схема проведения эксперимента по артериальной гипертензии (АГ) *in vivo*

4 группы крыс
линии Wistar

Способ моделирования
АГ- введение 4 %
параформальдегида
в верхний полюс почек

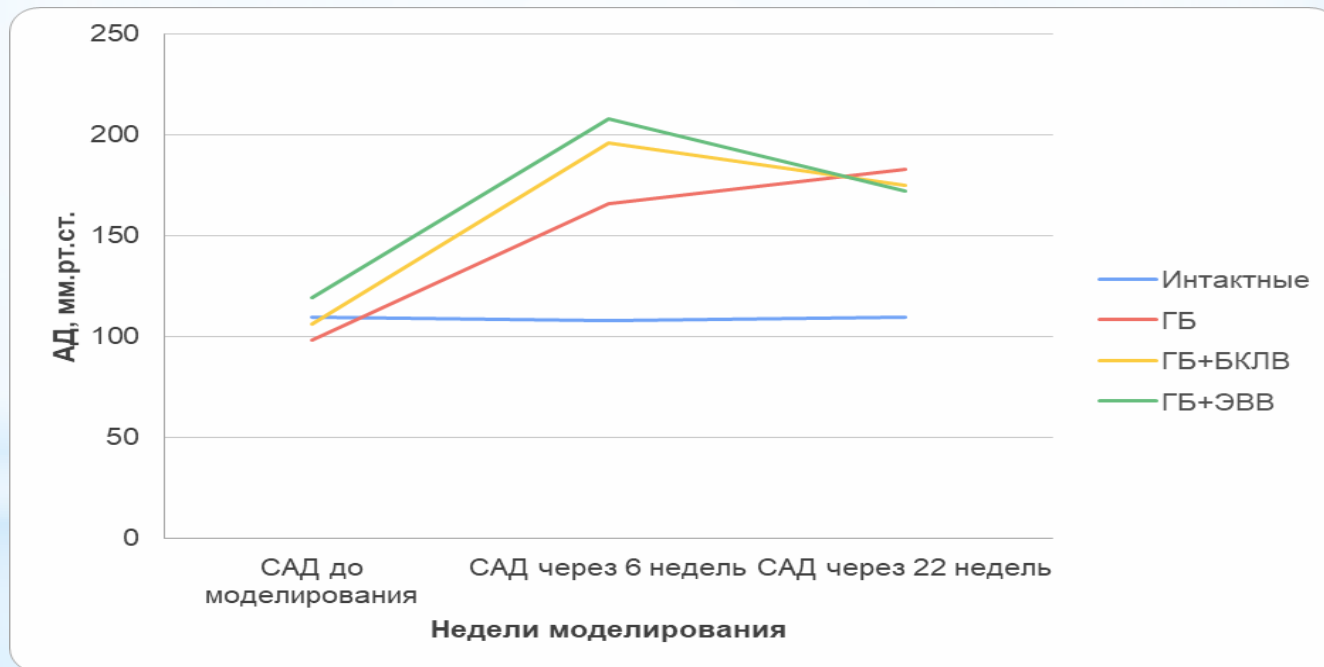
Длительность
моделирования (АГ) -
6 недель
Контроль за
наступлением АГ-
высокой давление, не
менее 193 ± 20

Прием пищевых
препаратов с
полифенолами-
12 недель

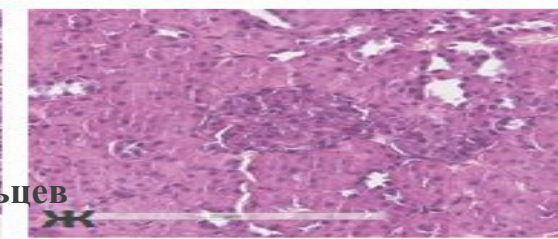
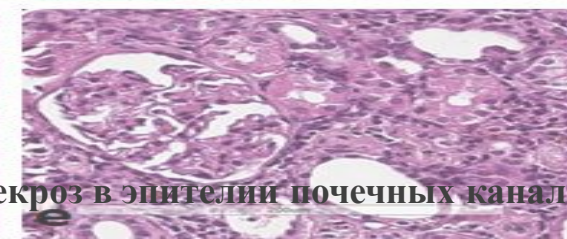
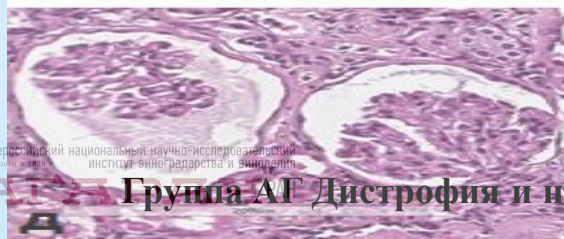
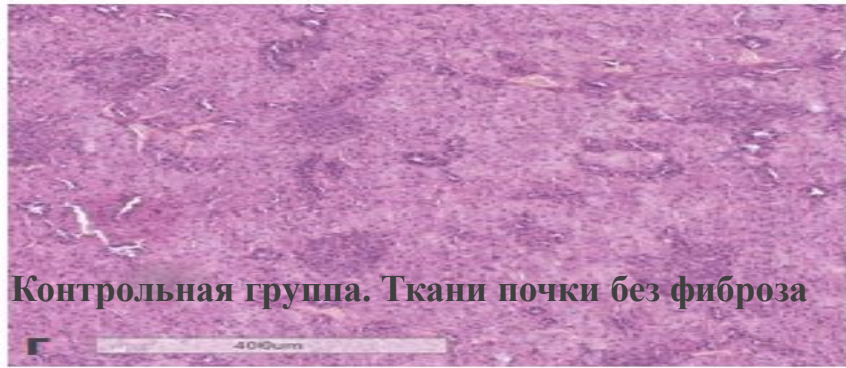
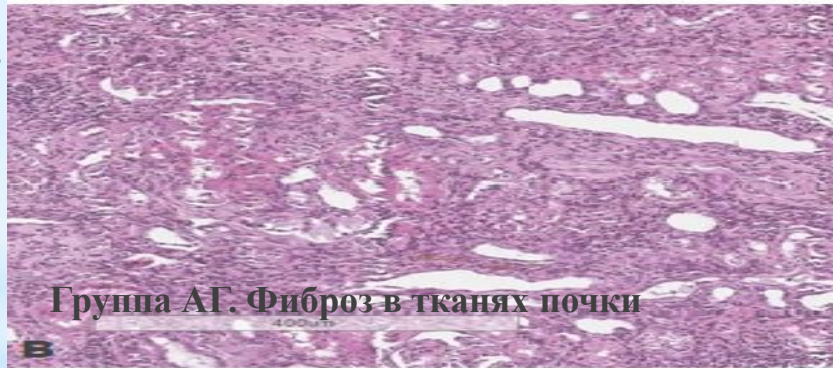
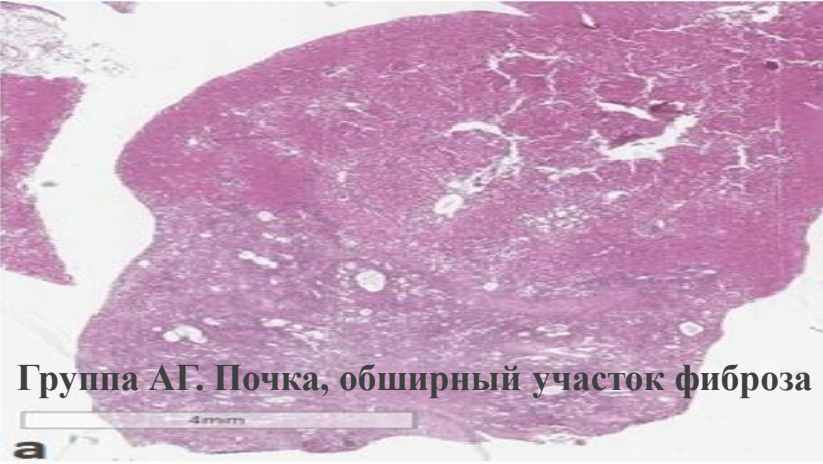
Исследование параметров:

1. Измерение артериального давление в группах крыс в процессе проведения эксперимента
2. Измерение биохимических показателей в сыворотке крови (мочевина, креатинин, общий холестерин, липопротеиды низкой и высокой плотности)
3. Микроскопическое исследование срезов органов: почек, надпочечников, сердца аорты
4. Иммуноферментный анализ суживающего агента сыворотки крови крыс - Эндотелина-1

Влияние пищевых продуктов, содержащих полифенолы, на уровень артериального давления крыс на модели артериальной гипертензии (22 недели эксперимента)



Морфологические изменения почечной паренхимы после оперативного моделирования артериальной гипертензии



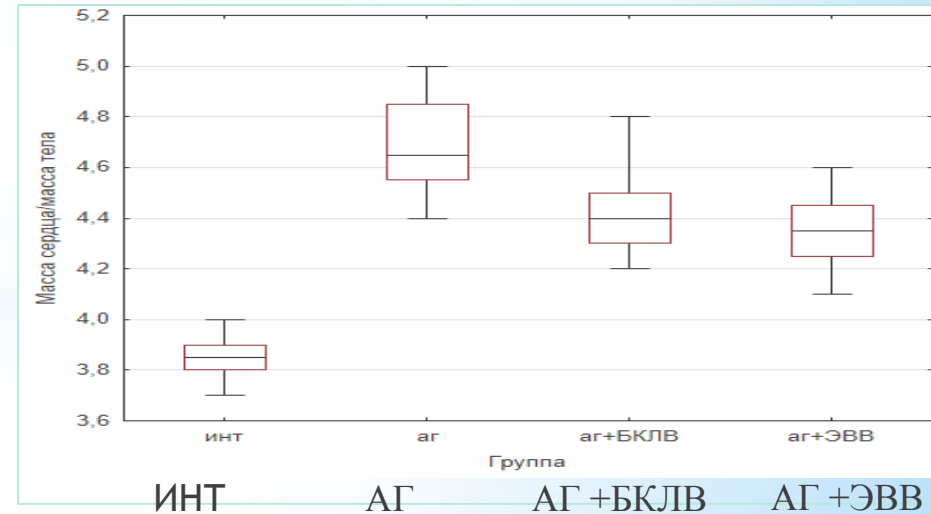
Группа АГ Дистрофия и некроз в эпителии почечных канальцев



Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия

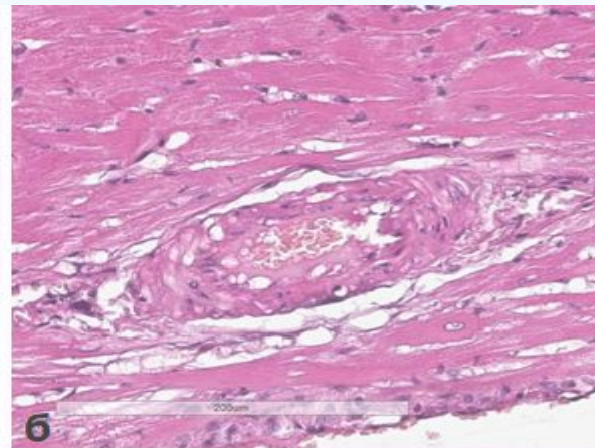
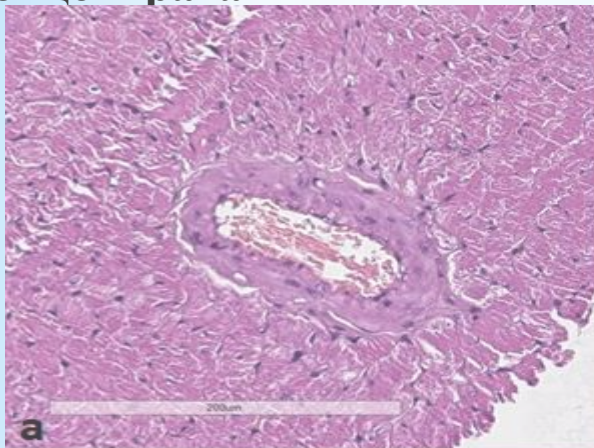
"МАГА"

Показатель	Группа			
	Интактные, (n=10)	АГ, (n=10)	АГ+БКЛВ, (n=15)	АГ+ЭВВ, (n=15)
Масса сердца/масса крысы), мг/г	3,9±0,1	4,7±0,2*	4,4±0,2**	4,4±0,2**



Влияние продуктов, содержащих полифенолы, на структуру сосудов миокарда на модели артериальной гипертензии и при коррекции полифенольными концентратами

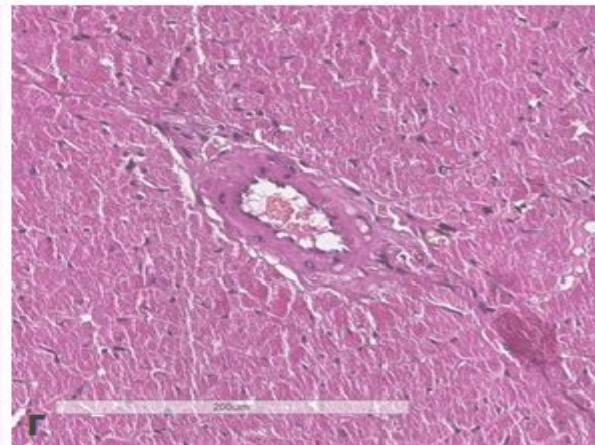
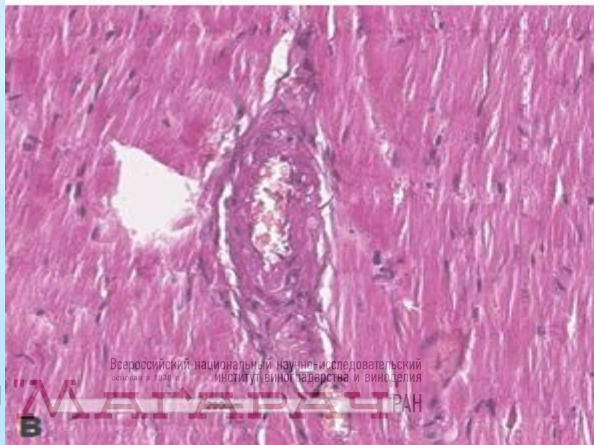
11



а- интактная группа. Миокард.
Нормальная структура сосуда

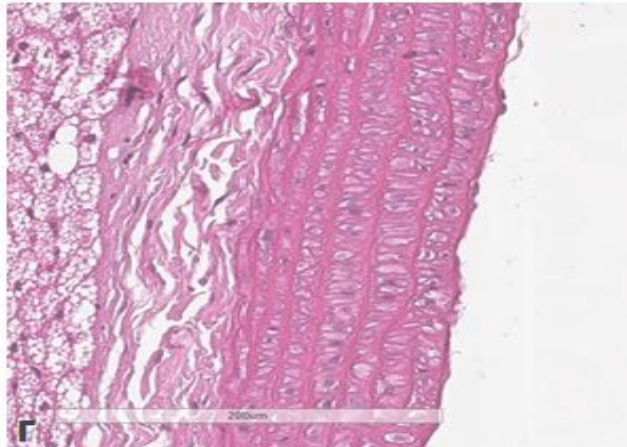
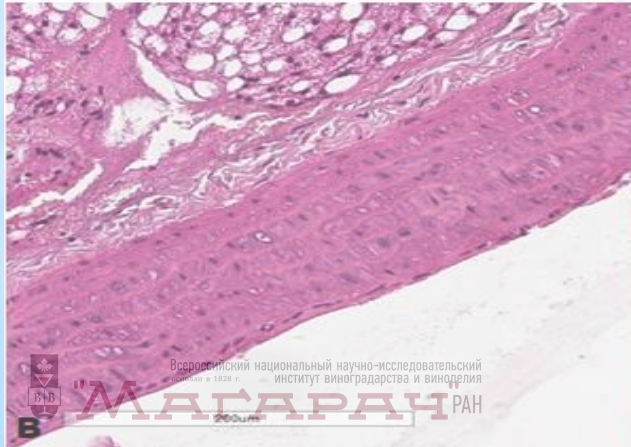
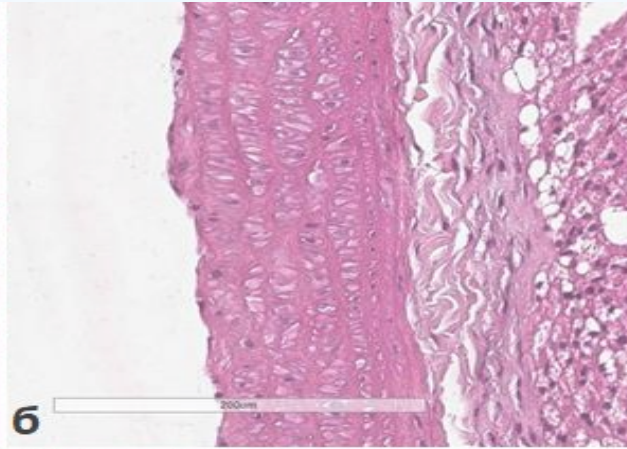
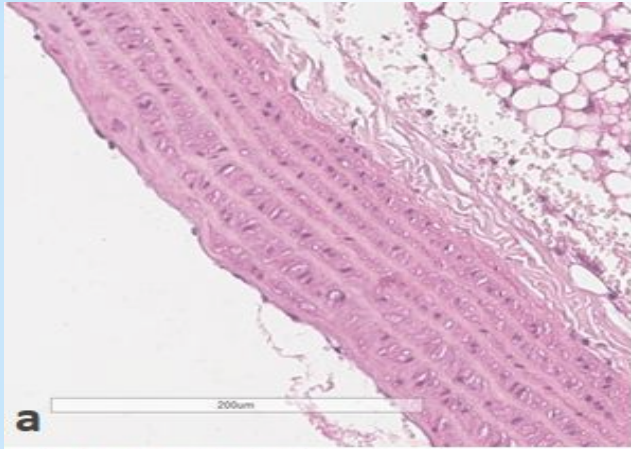
б- группа АГ. Миокард.
Артериола с признаками
гиалиноза, отек, фиброз

в- группа АГ + БКЛВ. Миокард.
Фиброз, невыраженный отек



г- группа АГ + ЭВВ.
Миокард. Фиброз

Влияние продуктов, содержащих полифенолы, на структуру аорты на модели артериальной гипертензии и при коррекции полифенольными концентратами



а- Интактная группа.
Нормальная структура
стенки аорты

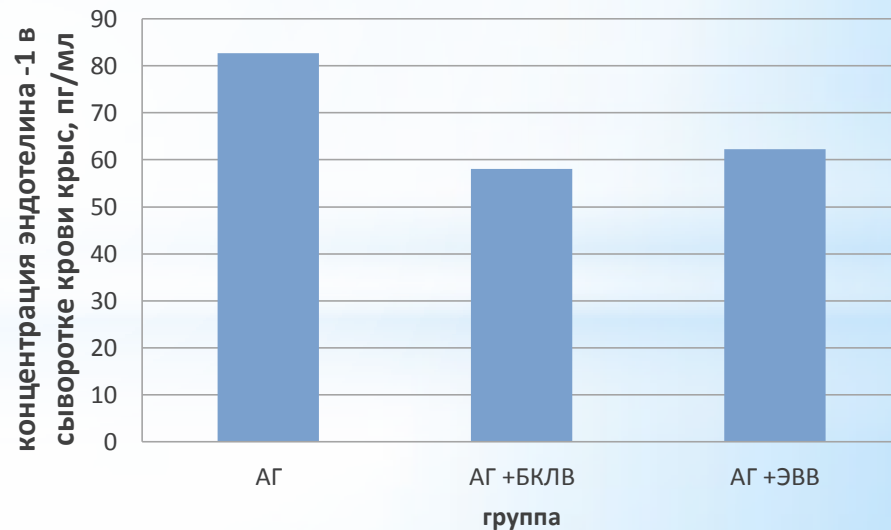
б- группа АГ.
Утолщение аорты.
Нарушение параллельности
эластических мембран.
Преобладание гладкомышечных
компонентов

в- группа АГ +БКЛВ.
Нарушение параллельности
эластических мембран.

г- группа АГ +ЭВВ
Преобладание
гладкомышечных компонентов

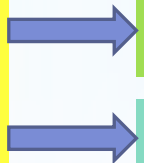
Уровень Эндотелина-1 в сыворотке крови крыс

Показатель, пг/мл (пикомоль/мл)	Группа		
	АГ, (n=10)	АГ+БКЛВ, (n=15)	АГ+ЭВВ, (n=15)
Эндотелин-1	82,7±19,6	58,1±9,9*	62,3±8,6*



Изучение антиоксидантных свойств безалкогольного пищевого концентрата полифенолов лозы винограда (БКЛВ) на базе ОП ООО «ММЦ» Санаторий «Белые ночи»

Этап 1
Сроки испытаний
февраль- март
2023



Проверка пищевого препарата на соответствие СТО 01580301- 036-2021

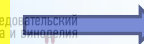
Предоставление Декларации о соответствии продукции Требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»

Этап 2
Сроки испытаний
апрель- октябрь
2023



Набор диагностических процедур.
Распределение пациентов по группам (контрольная, опытная).
Лабораторная диагностика, мониторинг нежелательных явлений у 50 испытуемых.
Прием БКЛВ - 101 мл продукта в сутки

Этап 3
Октябрь- ноябрь
2023



Обработка результатов исследований
Выдача Заключения

1. На основании качественного и количественного состава полифенолов (метод ВЭЖХ) в исследуемых пищевой продукции установлен суточный уровень потребления продукции для применения в экспериментах *in vivo*.

2. Экспериментально смоделирована ренопаренхиматозная артериальная гипертензия, инструментально и морфологически доказана ее состоятельность, выражающаяся в поднятии артериального давления до $193 \pm 20,3$ мм.рт.ст. и наличии микроскопических признаков повреждения паренхимы почки. Биохимически доказано отсутствие метаболического компонента в экспериментальной модели, а также компенсированность состояния почек после химического воздействия. Определена функциональная эффективность экспериментальных образцов, которая обеспечила снижение артериального.

3. Проведен морфологический анализ цито- и гистопротективных свойств экспериментальных образцов:
- снижение выраженности гипертрофических процессов в миокарде, отображающихся в отношении массы сердца к массе крысы; менее выраженный фиброз, периваскулярной отек в тканях почек в присутствии коррекции полифенолами артериальной гипертензии; меньшее повреждение стенок аорты и сниженные темпы роста ее толщины.

4. Коррекция полифенольными концентратами достоверно снижает уровень эндотелина-1 (сосудосуживающего агента) в крови, что характеризует положительное протективное воздействие на эндотелий-пласт клеток, выстилающих внутреннюю поверхность кровеносных сосудов, и сохранение его функциональной активности.

5. Изучение антиоксидантных свойств (БКЛВ) на базе ОП ООО «ММЦ» Санаторий «Белые ночи» показало что исследуемый продукт, в максимальной-средних суточных дозировках не влияет на углеводный обмен, оказывает незначительный эффект на антиоксидантный статус, и оказывает влияние на липидный обмен, что требует более прицельного изучения для рекомендаций по лечению метаболического синдрома в данной дозировке.

- 1. Приняли участие в выполнении договора № 8/2023 от 16.01.2023 г. с АО «Производственное аграрное объединение «Массандра» на производство и поставку опытной партии продукции концентрата полифенолов лозы винограда (60 л) на сумму 184,020 тыс. руб. Сумма по договору получена в полном объеме**
- 2. Заключен договор:**
 - № 242023 от 26.01.2023 г. с КФХ Побережный Евгений Александрович» на выполнение работ по теме: «Анализ суммы полифенолов, полифенолов методом ВЭЖХ и антиоксидантной активности в двух сухих экстрактах из семян винограда» на сумму 12,0 тыс. руб. Сумма по договору получена в полном объеме.**
- 4. Опубликованы 3 статья в научных журналах, индексируемых в базе данных Scopus, РИНЦ.**
- 5. Приняли участие в 3-х конференциях и школе молодых ученых**