РОССИЙСКИЙ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ им. И.М. СЕЧЕНОВА 2025, том 111, № 6, с. 929–943

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ПОЛИФЕНОЛЫ ГРЕБНЕЙ ВИНОГРАДА *VITIS VINIFERA L.* РЕГУЛИРУЮТ МЕТАБОЛИЗМ ЭТИЛОВОГО СПИРТА И СНИЖАЮТ ЕГО ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ У КРЫС

© 2025 г. С. Е. Фоменко[1,*], Н. Ф. Кушнерова[1], В. Г. Спрыгин[1]

[1]Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток, Россия
[*]E-mail: fomenko29@mail.ru

Поступила в редакцию 05.02.2025 г.
После доработки 14.04.2025 г.
Принята к публикации 16.04.2025 г.

В процессе исследования оценивалось влияние экстракта из гребней (кисти после отделения ягод) винограда *Vitis vinifera* L., обогащенного полифенольным комплексом, на элиминацию этанола и активность алкогольдегидрогеназы (АДГ) и альдегиддегидрогеназы (АлДГ) в печени крыс в условиях хронической алкогольной интоксикации. Общее содержание полифенолов в полученном экстракте составило 53.12 ± 1.25 мг-экв ГК/г сухого экстракта (мг-эквивалент галловой кислоты/г) и флавоноидов – 8.02 ± 2.6 мг-экв Кв/г сухого экстракта (мг-эквивалент кверцетина/г). Под действием 5%-ного экстракта из гребней винограда (ЭГВ), добавленного в 15%-ный раствор этанола, наблюдалось снижение потребления этилового спирта животными как в условиях свободного доступа, так и принудительного контакта с этанолом. Сравнительный анализ фармакокинетических параметров этанола в крови крыс показал, что добавка ЭГВ приводит к снижению элиминации этанола из организма, о чем свидетельствует увеличение времени полувыведения ($T_{1/2}$) и уменьшение константы элиминации этанола (K_{el}). Установлено, что комплекс полифенолов, содержащихся в экстракте растительного происхождения, играет важную роль в метаболизме этилового спирта в организме животных, оказывая воздействие на ферменты, участвующие в его окислении. Действие ЭГВ приводит к увеличению редуктазной активности АДГ в печени, что помогает предотвратить накопление высокотоксичного ацетальдегида в организме. Данный факт подтверждается снижением активности фермента АлДГ в печени крыс как с низкой, так и с высокой константой Михаэлиса. Комплекс полифенолов, выделенный из виноградных гребней, может стать эффективным средством для защиты организма от токсического воздействия высоких доз этилового спирта.

Ключевые слова: полифенолы, *Vitis vinifera*, этанол, печень, крысы

DOI: 10.31857/S0869813925060074, **EDN:** TEWXWN

ВВЕДЕНИЕ

Чрезмерное употребление алкоголя отражается на здоровье и является основным фактором риска преждевременной смерти и инвалидности [1, 2]. Злоупотребление алкоголем приводит к негативным последствиям для всех органов и тканей, однако

печень, являющаяся основным органом, участвующим в его метаболизме и детоксикации, особенно подвержена негативному воздействию [3].

Известно, что биотрансформация этилового спирта осуществляется на 90–98% в печени при участии $НАД^+$-зависимой алкогольдегидрогеназы (АДГ), каталазы и микросомальной этанолокисляющей системы, в результате чего этанол переходит в ацетальдегид. При участии альдегиддегидрогеназы (АлДГ) происходит превращение ацетальдегида в ацетат. Наиболее значимым метаболическим путем считается окисление этанола ферментативной системой АДГ–АлДГ, активность которой и определяет скорость его элиминации [3, 4]. Пути каталазного окисления и взаимодействия с цитохромом Р-450 считаются дополнительными. Установлено, что микросомальные ферменты функционируют лишь при высоком уровне этанола в крови, когда снижается активность АДГ из-за дефицита $НАД^+$ [5, 6].

В ходе многочисленных исследований были выявлены ключевые составляющие патофизиологических процессов, приводящих к поражению печени вследствие хронического употребления алкоголя: аккумуляция липидов в гепатоцитах и их последующая деградация, интенсификация процессов окисления липидов, снижение резистентности организма к окислению, подавление реакций цикла Кребса и синтеза глюкозы из неуглеводных соединений [3, 7, 8]. Следствием этого является нарушение всех обменных процессов в организме. В развитии алкогольной болезни печени ведущее значение имеют как непосредственное токсическое воздействие этанола и ацетальдегида, которое приводит к нарушениям синтеза белка, метаболизма углеводов и липидов, так и косвенные механизмы, включая образование этиловых радикалов, радикалов кислорода, оксида азота и других токсических соединений [9, 10].

Одним из возможных путей профилактики для снижения токсического воздействия этилового спирта на организм является коррекция его метаболизма. Он может быть направлен в сторону воздействия на активность АДГ, в результате снижается быстрая наработка ацетальдегида, который считается наиболее токсичным соединением. Существуют данные, в которых показано влияние экстрактов из растений на состояние этанолокисляющей системы и скорость элиминации этанола в экспериментальных и натурных исследованиях [11–13].

Для предотвращения алкогольной зависимости и связанных с ней заболеваний необходимо разрабатывать лекарственные средства, созданные на основе природных компонентов, в том числе растительного происхождения. Такие препараты могут способствовать снижению или даже предотвращению патологических изменений в печени, вызванных алкогольной интоксикацией.

Наиболее перспективными с точки зрения фармакологии и биохимии являются комплексы природных полифенолов – катехины, антоцианидины, флавоноиды и их производные. Именно они широко распространены в растениях и плодах, традиционно употребляемых человеком в пищу [14], при этом суточное потребление полифенолов может достигать 1 г и более в день. В ранних исследованиях нами было показано, что комплекс полифенолов, выделенных из отходов при переработке растительного сырья, способствовал восстановлению показателей липидно-углеводного обмена печени и проявлял антиоксидантные свойства при алкогольной интоксикации [15, 16].

Особенно много полифенольных соединений в кистях, стеблях и косточках винограда [17, 18]. Экстракты различных частей винограда (гребни, кожица, стебли, семена, корни) содержат комплекс полифенолов, обладающих антиоксидантным действием и превышающих активность таких антиоксидантов, как аскорбиновая кислота и α-токоферол. При этом экстракты винограда обладают значительным потенциалом в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний [19], эффективно снижают окислительный стресс и нарушения в иммунной системе, вызванные хроническим употреблением этанола [20]. В ходе экспериментальных исследований было выявлено гепато- и гастропротекторное действие виноградных полифенолов при длительном

употреблении этанола [21, 22]. Введение в рацион крыс пищевых добавок с полифенолами из виноградных выжимок способствовало улучшению морфологии печени, обусловленной хроническим употреблением этанола [23].

В последнее время активно изучаются возможности переработки отходов винодельческой промышленности, которые составляют примерно пятую часть всего собранного урожая [24]. Винодельческая отрасль производит значительное количество отходов винограда, что создает серьезные экологические проблемы. В винограде содержится большое количество полифенолов, но в процессе виноделия они извлекаются не полностью. При этом виноградные выжимки, которые остаются после дробления, мацерации и прессования, могут стать доступным и богатым источником разнообразных полифенолов. Побочные продукты, получаемые при минимальной обработке винограда, состоят в том числе из виноградных плодоножек, которые представляют собой древесную часть кистей.

В отечественных и зарубежных источниках представлено достаточно подробное описание химического состава винограда. Количественный состав может варьировать в зависимости от сорта винограда, региона его произрастания и метода экстракции. Изучение состава экстракта, полученного из гребней винограда, представленного в данном исследовании, позволило выявить наличие разнообразных классов соединений. В экстракте преобладают полифенолы, среди которых проантоцианидины, катехины, флавонолы, фенольные кислоты, лигнины, лигнаны и др. Также в экстракте присутствуют стильбены, в частности, *транс*-ресвератрол, ароматические кислоты, свободные аминокислоты, сахара и другие органические соединения. Доминирующим классом выделенного полифенольного комплекса являются олигомерные проантоцианидины, представляющие собой полимерные формы катехинов [25]. Согласно литературным данным [26, 27], проантоцианидины и катехины преобладают во всех видах винограда, причем в твердых частях виноградной грозди их содержание значительно выше, чем в выжимках (смеси кожуры и косточек).

Несмотря на имеющиеся многочисленные данные о влиянии полифенолов и содержащих их различных частей виноградной лозы (гребни, кожура, косточки) на обменные процессы у животных и человека, недостаточно изучено воздействие экстрактов из гребней винограда (ЭГВ) на процессы окисления этилового спирта и возможности снижения его токсического действия на организм.

Цель работы – исследование влияния ЭГВ *Vitis vinifera* L., обогащенного полифенольной фракцией, на элиминацию этанола и активность этанолокисляющих ферментов в организме животных при интоксикации этиловым спиртом.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментальных исследованиях использовался ЭГВ культурного *V. vinifera* сорт “Каберне”, представляющий собой, как указывалось выше, сложный композиционный состав различных классов веществ, в котором по количеству преобладает класс флавоноидов (проантоцианидины, катехины, флавонолы). Для получения ЭГВ был применен традиционный метод, обычно используемый для экстракции растительных материалов [18]. Кисти винограда отделяли от ягод и помещали в сушильные камеры, где их высушивали при температуре < 50 °С. После этого высушенное сырье измельчали на лабораторной мельнице до размера частиц 2–5 мм и затем проводили экстракцию с использованием 40%-ного раствора этилового спирта методом реперколяции. Выход экстракта составлял 1 л из 1 кг сырья. Полученный экстракт упаривали на роторном испарителе (Type 349/2, Unipan, Польша) до полного удаления этанола. Далее полученный водный раствор последовательно экстрагировали хлороформом с целью удаления липофильных соединений и пигментов. После этого было проведено

центрифугирование при ускорении 10 000 *g* в течение 10 мин для осаждения взвешенных частиц. Осадок отделяли, а надосадочную фракцию, обогащенную полифенолами, упаривали в вакууме до полного удаления растворителя и затем ресуспендировали в воде. В 1 мл водно-спиртового экстракта содержалось примерно до 80 мг сухих веществ. В полученном водно-спиртовом извлечении из гребней винограда определяли общее содержание полифенолов и флавоноидов.

Для определения общего содержания полифенолов применяли реактив Фолина–Чокальтеу при $\lambda = 765$ нм [28]. В качестве эталона сравнения использовали галловую кислоту (ГК). Общее содержание полифенолов выражали в мг-экв ГК на 1 г сухого экстракта. Для определения общего содержания флавоноидов использовали спектрофотометрический метод с хлоридом алюминия, разработанный Chandra с соавт. [29]. В качестве эталона сравнения для определения общего содержания флавоноидов использовали кверцетин (Кв) и выражали в мг-экв Кв на 1 г сухого экстракта.

Исследование выполнено на 70 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г в возрасте 2 месяцев, которые были получены из питомника “Столбовая” Научного центра биомедицинских технологий России. Перед началом эксперимента все крысы прошли период адаптации, который длился 10 дней. В течение этого времени животные содержались в условиях вивария в пластиковых клетках по пять особей, при комнатной температуре 22 ± 2 °С, относительной влажности 50–65%, при режиме освещения 12/12 ч и свободном доступе к корму и воде. Питание животные получали в виде гранулированного корма (марка “Дельта Фидс”, АО “БиоПро”, Россия), который соответствовал базовому рациону, утвержденному для лабораторных животных (ГОСТ Р 50258-92).

Первый этап исследований был направлен на установление влияния ЭГВ, обогащенного полифенольным комплексом, на уровень потребления этанола животными. В ходе эксперимента продолжительностью 15 недель исследовался объем потребляемого этанола в условиях, когда животные имели возможность свободно выбирать между водой и 15%-ным раствором этанола, а также между водой и комбинированным раствором этанола в сочетании с ЭГВ (5%).

Предварительно животные ($n = 30$) тестировались на устойчивость к этанолу по методике бокового положения при введении внутрибрюшинно 25%-ного этанола в дозе 4.5 г/кг массы тела животного [30]. Продолжительность бокового положения после введения этанола является показателем интенсивности метаболизма этанола. Длительность “алкогольного наркоза” находится в обратной зависимости от степени алкогольной мотивации.

Животные с одинаковыми показателями высокой устойчивости к этанолу были разделены на две группы (по 10 в каждой). После этого их размещали в клетках, оснащенных поилками с нанесенными градуированными делениями. Животным предоставлялся выбор между 15%-ным этанолом и водой (1-я группа) или между смесью из 15%-ного этанола с 5%-ным ЭГВ и водой (2-я группа). Каждый день осуществлялось измерение уровня жидкости в поилках и на основе полученных данных рассчитывалось потребление в мл/кг массы тела животного. Спустя 13 недель, в течение которых животные могли свободно потреблять этанол, им на 10 дней ограничили доступ к растворам этанола (период отмены), после чего испытуемые крысы были возвращены в первоначальные условия свободного выбора на одну неделю. В этот период также замерялся объем потребляемых растворов.

На следующем этапе (2-й эксперимент) изучалось влияние ЭГВ на элиминацию этанола и изменение активности этанолокисляющей ферментативной системы при потреблении этанола в течение трех недель. В ходе исследования было проведено 10-дневное тестирование крыс ($n = 40$) на предмет предпочтения 15%-ного раствора этанола или воды при свободном доступе к обоим растворам. В результате были отобрано 24 крысы, потреблявшие равное количество 15%-ного этанола (в среднем 3.0–3.5 г/кг в день).

Животных произвольно разделили на три группы по 8 особей в каждой в условия принудительного контакта с одним из растворов: 1-я группа (контроль) – вода; 2-я группа – 15%-ный этанол; 3-я группа – 15%-ный этанол с добавкой ЭГВ (5%). Длительность эксперимента составляла три недели, так как, согласно исследованиям Власовой [31], скорость выведения этанола из крови крыс остается величиной постоянной к трем неделям алкоголизации.

Через три недели у животных из каждой группы были изучены особенности кинетики этанола в крови, вводимого внутрибрюшинно в виде 25%-ного раствора в тест-дозе (1г/кг). Из оставшихся животных, предпочитавших воду ($n = 16$), были сформированы две группы (интактные) для изучения фармакокинетики 25%-ного этанола (1г/кг) и 25%-ного этанола с добавкой ЭГВ (5%) в той же дозе.

Образцы крови объемом 100 мкл брали из хвостовой вены через 30, 60, 120 и 240 мин после введения этанола. Отбор крови проводили в пластиковые вакуэтты с антикоагулянтом (Na-ЭДТА), затем кровь центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об/мин (центрифуга Model MPW, К-23, Германия). Полученную плазму помещали в герметично упакованные пластиковые контейнеры и затем – в рефрижератор при –20 °С для проведения последующих биохимических анализов.

Для определения уровня этанола в плазме крови применяли метод парофазной газовой хроматографии [32]. В исследовании использовался газовый хроматограф "ЛХМ-2000" (производства ОАО "Хроматограф", Россия) с пламенно-ионизационным детектором. Исследования проводили в колонке (1.5 м × 0.3 см), заполненной полисорбом (0.25–0.5 мм). Кондиционирование происходило при 200 °С в течение 48 ч при следующих условиях: Т колонки = 125 °С, Т испарителя = 150 °С, Т детектора = 130 °С. В качестве газового носителя использовался азот при скорости потока 30 мл/мин, водород – 30 мл/мин, воздух – 300 мл/мин.

При изучении фармакокинетики этанола использована однокамерная модель с выведением [33]. Используемая модель представляет "организм" в виде единой однородной камеры, в которую лекарственное вещество поступает, равномерно распределяется и выводится. Изучались следующие фармакокинетические параметры: время полувыведения ($T_{1/2}$, ч), константа элиминации (K_{el}, $ч^{-1}$), кажущийся объем распределения (Vp, л/кг), общий клиренс (CL л/кг ч), площадь под фармакокинетической кривой (S, мг ч/л).

Животных выводили из эксперимента путем декапитации под воздействием легкого эфирного наркоза (эфир для наркоза стабилизированный, "МЕДХИМПРОМ" ПХФХ, ОАО).

Изменение активности АДГ и АлДГ на фоне потребления этанола в течение трех недель исследовали в ткани печени, которую быстро извлекали, промывали в физиологическом растворе и замораживали при –80 °С для дальнейших биохимических анализов. Источником исследуемых ферментов служил супернатант гомогената печени, который получали центрифугированием (10 000 *g*) гомогената в изотоническом растворе NaCl. В супернатанте печени была исследована дегидрогеназная и редуктазная активность АДГ, а также активность АлДГ с низкой и высокой константой Михаэлиса (Км) к ацетальдегиду. Реакционная смесь для определения дегидрогеназной активности АДГ (в качестве субстрата этанол) содержала 0.1 М глицина, 1.3 мМ $НАД^+$ и 0.25 М этанола (pH 9.0) [34]. При определении редуктазной активности АДГ (в качестве субстрата ацетальдегид) реакционная смесь содержала следующие компоненты: 50 мМ $КН_2РО_4$, 0.15 мМ НАДН, 8 мМ ацетальдегид (pH 7.5).

Общую активность АлДГ определяли спектрофотометрическим методом по изменению количества образовавшегося НАДН в присутствии 5 мМ ацетальдегида, активность АлДГ с низкой $К_м$ определяли в присутствии 50 мкМ ацетальдегида. В состав реакционной смеси входили: 50 мМ $Na_4P_2O_7$, 0.5 мМ $НАД^+$, 0.1 мМ пиразола, 2 мкМ ротенона (pH 8.8). Реакцию инициировали путем добавления субстрата. Активность

фермента с высокой $К_{м.}$ определялась как разность между общей активностью АлДГ и активностью АлДГ с низкой $К_{м}$ [35]. Активность ферментов измеряли в мкмоль НАДН/мин/г ткани. Исследование активности этанолокисляющих ферментов проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-2550 (Shimadzu, Япония).

Все биохимические исследования контрольной и опытных групп были проведены не менее чем в трех повторах. Результаты измерений были представлены в виде среднего значения ± ошибка среднего. Для обработки данных использовался статистический пакет Instat 3.0 от компании GraphPad SoftwareInc (США). Для определения статистической значимости различий между средними значениями был применен непараметрический критерий сравнения тест Краскела–Уоллиса с последующим тестом Данна (Dunn's Multiple Comparisons Test) для сравнения нескольких групп. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Перед проведением экспериментальных исследований по изучению влияния ЭГВ *V. vinifera* на метаболизм этанола в организме животных, подвергнутых алкогольной интоксикации, в отобранных образцах экстрактов было определено общее количество полифенолов и флавоноидов. В результате анализа было установлено, что суммарное содержание полифенолов в экстракте составило 53.12 ± 1.25 мг-экв ГК/г сухого экстракта, общее содержание флавоноидов – 8.02 ± 2.6 мг-экв Кв/г сухого экстракта, что согласуется с литературными данными [27].

Одним из вариантов методических приемов при изучении эффективности используемых лекарственных средств для лечения алкоголизма является оценка их воздействия на количество потребляемого этанола. Феномен увеличения потребляемого объема этанола после его отмены отражает степень влечения к алкоголю, а в дальнейшем развитие зависимости от него [36, 37].

На рис. 1 видно, как изменялась динамика потребления этанола и этанола с добавкой ЭГВ у животных. На начальном этапе исследования (1–4-я недели) среднесуточное количество этанола, потребляемого с добавкой экстракта, превышало уровень потребления этанола без добавок. Динамика привеса в обеих группах существенно не отличалась в этот период. В течение четырех недель опыта прибавка массы у крыс, получавших 15%-ный этанол (1-я группа), составила 43.4 ± 4.6 г при исходной массе тела 180.8 ± 10.5 г. У животных, потреблявших 15%-ный этанол с ЭГВ (2-я группа), прирост массы тела составил 42.2 ± 2.7 г при исходной массе 185.7 ± 11.3 г.

С 8-й недели наблюдалось заметное уменьшение употребления этанола в сочетании с экстрактом. В этот период количество этанола, потребляемого животными с добавкой ЭГВ, снизилось на 43% ($p < 0.01$) по сравнению с группой животных, которые употребляли только этанол. На протяжении последующего периода до 13 недель включительно характер наблюдаемых изменений оставался прежним. Было видно, что добавка ЭГВ вела к значительному снижению количества потребляемого этанола.

Согласно экспериментальным исследованиям [38], увеличение степени влечения к алкоголю сопровождается повышением объема потребляемого этанола у животных после непродолжительного периода отмены. В рамках нашего эксперимента, спустя 13 недель свободного выбора между этанолом и водой, подопытным крысам ограничивали доступ к растворам этанола на 10 суток, после чего животных вновь возвращали в прежние условия свободного выбора.

В этот период было зафиксировано достоверное увеличение на 19% ($p < 0.05$) объема потребляемого этанола без добавок (1-я группа) по сравнению с исходным периодом до отмены. Потребление же этанола в сочетании с ЭГВ (2-я группа) после 10-дневного периода отмены осталось на том же уровне, что и до прекращения доступа к этанолу.

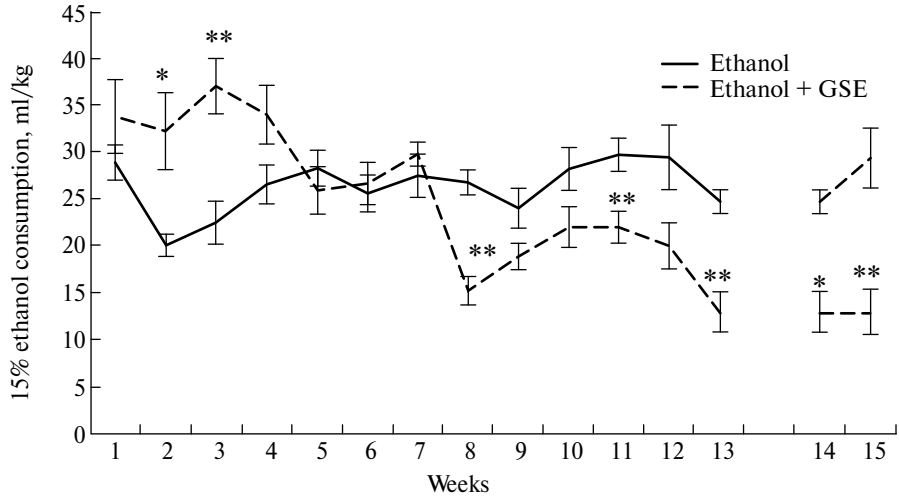

Рис. 1. Среднесуточное потребление крысами 15%-ного этанола (1-я группа) и 15%-ного этанола с добавкой ЭГВ (5%) (2-я группа) в течение 15 недель (мл/кг массы). GSE – экстракт гребней винограда (ЭГВ). Различия статистически достоверны при сравнении с 1-й группой: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$.

При этом уровень потребления этанола с добавкой ЭГВ у животных был в два раза ($p < 0.01$) ниже в сравнении с таковым потреблением этанола без добавки. Достоверное повышение уровня потребляемого 15%-ного этанола у животных 1-й группы сопровождалось снижением массы тела крыс спустя 15 недель эксперимента по отношению к показателям 2-й группы при относительно равной исходной массе животных. Так, у животных 2-й группы, получавших 15%-ный этанол совместно с 5% ЭГВ, был зафиксирован прирост массы тела в среднем на 150.5 ± 10.7 г. В то же время у животных, потреблявших 15%-ный этанол без добавки (1-я группа), прирост массы тела составил только 110.7 ± 8.7 г, что на 26% ($p < 0.01$) ниже соответствующих показателей во 2-й группе.

Таким образом, введение экстракта, обогащенного полифенольным комплексом, в качестве добавки к 15%-ному этанолу, приводит к существенному снижению потребления этанола крысами спустя 13 недель эксперимента. Отмена этанола на протяжении 10 дней у этих крыс не вызывала повышения его потребления в дальнейшем. В то же время у животных, потреблявших этанол без добавления ЭГВ, наблюдалось, наоборот, резкое повышение потребления этанола. На основании полученных данных можно заключить, что в условиях хронической алкогольной интоксикации введение ЭГВ способствует снижению потребления 15%-ного этанола.

С другой стороны, 10-дневная отмены этанола может привести к угашению реакции на этанол, так как у животных сформировалась устойчивая поведенческая или физиологическая реакции на его прием. Согласно исследованиям [39], при свободном доступе к этанолу после его отмены крысы часто демонстрируют сниженное потребление, что может быть связано с ослаблением подкрепляющих свойств этанола, а именно уменьшением дофаминового ответа. Но этот эффект скорее всего временный, так как в дальнейшем потребление этанола возобновляется. К тому же у животных 1-й группы, получавших этанол без добавок, эффект угашения не проявлялся.

Следующий этап исследования (2-й эксперимент) состоял в выяснении влияния ЭГВ на скорость элиминации этанола из организма, для чего были исследованы объем потребляемого этанола и его фармакокинетика у крыс, получавших этанол в течение 3 недель. Для этого животных помещали в условия принудительного контакта с одним

из растворов: 1-я группа (контроль) – вода; 2-я группа – 15%-ный этанол; 3-я группа – 15%-ный этанол с добавкой ЭГВ (5%).

Исходное потребление этанола животными 2-й опытной группы составило 3.29 ± 0.73 г/кг/день (в пересчете на чистый этанол). Через три недели принудительного контакта с 15%-ным раствором этанола оно возросло до 11 ± 0.36 г/кг/день. В 3-й опытной группе исходное потребление этанола было 3.35 ± 0.53 г/кг/день, а в период 3-недельного контакта с комбинированным раствором 15%-ного этанола с ЭГВ (5%) – 7.94 ± 0.35 г/кг/день. Как видно из полученных данных, в условиях принудительной алкоголизации добавка ЭГВ снижала потребление этанола на 28% ($p < 0.01$) по сравнению со 2-й группой крыс, потреблявших 15%-ный этанол.

Определение в этот период фармакокинетических параметров (табл. 1), дающих количественную оценку процессов, происходящих в организме с препаратом, показало, что 3-недельное потребление 15%-ного этанола (2-я группа) существенно не влияло на скорость его элиминации из организма и достоверных изменений от контроля по изученным параметрам не выявлено.

В результате применения ЭГВ (3-я группа) было зафиксировано статистически значимое увеличение периода полувыведения этанола ($T_{1/2}$) на 10% и снижение константы элиминации этанола (K_{el}) на 9% по сравнению с контрольной группой. При этом другие фармакокинетические параметры не показали статистически значимых изменений. Уменьшение константы элиминации, которая представляет собой показатель, характеризующий скорость всех процессов, способствующих выведению лекарственного препарата из организма, а также увеличение периода полувыведения этанола у крыс 3-й группы свидетельствуют о замедлении процесса выведения этанола из организма [40].

Таким образом, предварительные данные указывают на снижение элиминации этанола из организма крыс под действием добавки в этанол ЭГВ.

Таблица 1. Фармакокинетические характеристики этанола в крови крыс после потребления 15%-ного этанола или этанола с добавлением ЭГВ (5%) в течение трех недель, а также в крови интактных крыс после введения тест-дозы 25% этанола (1 г/кг)

Группа животных	$T_{1/2}$, ч	K_{el}, $ч^{-1}$	V_p, л/кг	Cl, л/кг ч	S, мг ч/л
1-я группа, контроль	0.39 ± 0.01	1.76 ± 0.05	1.01 ± 0.14	1.75 ± 0.20	621 ± 87
2-я группа, этанол	0.41 ± 0.005	1.67 ± 0.02	1.20 ± 0.09	1.99 ± 0.13	512 ± 34
3-я группа, этанол + ЭГВ	0.43 ± 0.007*	1.61 ± 0.025*	1.58 ± 0.31	2.52 ± 0.47	447 ± 55
Интактные (25%-ный этанол)	0.46 ± 0.01	1.50 ± 0.02	1.28 ± 0.07	1.91 ± 0.09	528 ± 26
Интактные (25%-ный этанол + ЭГВ)	0.45 ± 0.01	1.54 ± 0.04	0.99 ± 0.06**	1.52 ± 0.06**	662 ± 25*

Примечания. ЭГВ – экстракт из гребней винограда; $T_{1/2}$ – время полувыведения; K_{el} – константа элиминации; V_p – кажущийся объем распределения; CL – общий клиренс; S – площадь под фармакокинетической кривой. Различия статистически достоверны при сравнении с контролем: * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$.

Для проверки данного вывода было проведено исследование на интактных крысах, которым внутрибрюшинно вводили тест-дозу (1 г/кг массы тела) 25%-ного этанола ($n = 8$) или 25%-ного этанола с добавкой экстракта (5%) ($n = 8$).

В результате было выявлено, что при введении тест-дозы этанола в сочетании с ЭГВ происходит уменьшение объема распределения (V_p) на 23% ($p < 0.01$) по сравнению с показателями группы животных, получавших этанол без добавки (табл. 1). Кроме того, у этих животных, получавших этанол с ЭГВ, наблюдалось снижение общего клиренса (Cl) на 21% ($p < 0.01$). Данный показатель характеризует скорость освобождения организма от этанола в единицу времени. Изменение полученных характеристик также указывает на замедление процесса выведения из организма этанола при добавлении к нему ЭГВ. Подтверждает ту же тенденцию увеличение площади под фармакокинетической кривой (S) на 25% ($p < 0.05$) у крыс, которым вводили этанол в сочетании с ЭГВ по отношению к животным, получавшим этанол без растительного экстракта. Этот фармакокинетический показатель S отражает общее содержание исследуемого вещества в системном кровотоке и представляет собой количественную меру.

При этом максимальная концентрация этанола в крови животных, получавших тест-дозу 25%-ного этанола с добавлением 5% ЭГВ, была зафиксирована через час после введения и составила 0.88 ± 0.05 мг/мл. В то же время у животных, получавших в качестве тест-дозы только 25%-ный этанол, данный показатель был ниже на 18% ($p < 0.05$) и составил 0.72 ± 0.05 мг/мл. Полученные данные также свидетельствуют о том, что при добавлении ЭГВ происходит замедление процесса выведения этанола из организма.

Поскольку в метаболизме этанола ведущая роль в основном принадлежит ферментативной системе АДГ–АлДГ, активностью которой и определяется скорость элиминации этанола из организма, мы изучали активность этанолокисляющей ферментативной системы спустя три недели после интоксикации этанолом.

В течение 3-недельного периода потребление этанола, а также его сочетание с ЭГВ не приводило к значимым изменениям дегидрогеназной активности фермента АДГ в печени крыс по сравнению с контрольной группой (рис. 2). При оценке редуктазной активности фермента АДГ в печени крыс, который катализирует реакцию восстановления ацетальдегида, было обнаружено, что у крыс, получавших этанол с добавлением экстракта, этот фермент работал более эффективно.

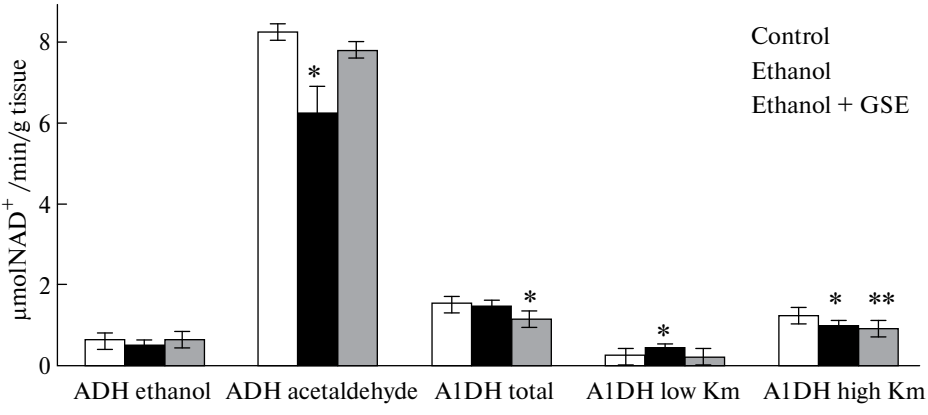

Рис. 2. Активность АДГ и АлДГ в печени крыс после потребления этанола и этанола с ЭГВ в течение трех недель. Различия статистически достоверны при сравнении с контролем: * – $p < 0.05$. GSE – экстракт гребней винограда (ЭГВ), $ADH_{ethanol}$ – $АДГ_{субстрат\ этанол}$, $ADH_{acetaldehyde}$ – $АДГ_{субстрат\ ацетальдегид}$, $AlDH_{total}$ – $АлДГ_{общая}$, $AlDH_{low\ Km}$ – – $АлДГ_{с\ низкой\ Km}$, $AlDH_{high\ Km}$ – $АлДГ_{с\ высокой\ Km}$.

Активность данного фермента в печени животных 3-й группы, потреблявших этанол в сочетании с ЭГВ, превышала на 24% ($p < 0.05$) соответствующие показатели во 2-й группе крыс, потреблявших этанол без добавок (7.80 ± 0.35 мкмоль/мин/г ткани против 6.27 ± 0.34 мкмоль/мин/г ткани) (рис. 2).

Аналогичная направленность изменений прослеживалась при расчете активности АДГ на 1 мг белка в печени животных 2-й и 3-й групп (табл. 2). При этом выход растворимого белка из 1 г печени в ходе приготовления супернатанта достоверно не отличался в опытных группах от контроля. В растворимой фракции белка печени крыс, которые употребляли этанол с ЭГВ, редуктазная активность АДГ была на 33% выше ($p < 0.05$), чем у животных, которые употребляли этанол без добавки.

Таким образом, при потреблении смешанного раствора этанола с ЭГВ редуктазная активность АДГ сохранялась на более высоком уровне, чем при потреблении одного этанола. Вероятно, под действием ЭГВ происходит восстановление ацетальдегида, что подтверждается увеличением редуктазной активности АДГ, которая выступает в роли ацетальдегидредуктазы.

Таблица 2. Активность этанолокисляющих ферментов (АДГ и АлДГ) в растворимой фракции белка печени крыс (нмоль НАДН/мин/мг белка) после 3-недельного потребления 15%-ного этанола, а также 15%-ного этанола с добавлением ЭГВ ($M \pm m$)

Биохимический показатель	Группы животных		
	1-я группа, контроль	2-я группа, этанол	3-я группа, этанол + ЭГВ
Растворимый белок печени (мг/г)	82.70 ± 4.70	91.70 ± 5.90	84.70 ± 5.90
АДГ (субстрат этанол)	7.53 ± 0.67	6.79 ± 0.90	8.30 ± 1.00
АДГ(субстрат ацетальдегид)	100.30 ± 6.00	70.70 ± 5.80**	94.10 ± 8.40[1]
АлДГ (общая)	8.40 ± 0.50	10.85 ± 1.18	9.30 ± 0.88
АлДг с низкой $К_м$	1.56 ± 0.36	3.60 ± 0.54**	1.95 ± 0.42[1]
АлДг с высокой $К_м$	6.90 ± 0.40	7.34 ± 0.81	7.34 ± 0.54

Различия статистически достоверны при сравнении с контролем: ** – $p < 0.01$; при сравнении 3-й группы со 2-й группой – [1] – $p < 0.05$. ЭГВ – экстракт гребней винограда.

Согласно исследованиям Островского и Сатановской [41], основная физиологическая функция АДГ заключается прежде всего в восстановлении высокотоксичного ацетальдегида до этанола. Этот фермент участвует в формировании эндогенного запаса этанола и превращении высокореактивного ацетальдегида в менее активное соединение с определенными свойствами.

Трехнедельный контакт животных с этанолом (2-я группа) не выявил каких-нибудь изменений в общей активности АлДГ по сравнению с контролем (рис. 2). Однако при исследовании активности изоферментов АлДГ в печени крыс данной группы отмечается увеличение в 2 раза ($p < 0.05$) активности АлДГ с низкой $К_м$ при одновременном снижении на 19% ($p < 0.05$) активности АлДГ с высокой $К_м$ по отношению к показателям контрольной группы.

При расчете активности АлДГ на 1 мг белка прослеживается аналогичная направленность изменений по исследуемым параметрам. Так, активность АлДГ с низкой $К_м$ в растворимой фракции белка печени значительно возросла (в 2.3 раза) по сравнению с контролем, активность же АлДГ с высокой $К_м$ практически не изменилась (табл. 2). Эти изменения активности изучаемых изоферментов вполне согласуются с литературными данными [42, 43]. Именно АлДГ с низкой $К_м$ играет ведущую роль в окислении ацетальдегида.

У животных, получавших этанол с ЭГВ (3-я группа), общая активность АлДГ была снижена на 22% ($p < 0.05$) и составляла 1.18 ± 0.06 мкмоль/мин/г ткани против 1.52 ± 0.09 мкмоль/мин/г ткани в контроле (рис. 2). Среди изоферментов АлДГ значительно понизилась (на 25%, $p < 0.01$) активность фермента с высокой $К_м$, что составляло 0.94 ± 0.04 мкмоль/мин/г ткани против 1.26 ± 0.09 мкмоль/мин/г ткани в контроле ($p < 0.01$). В свою очередь активность АлДГ с низкой $К_м$ также снизилась, но менее значительно.

При расчете активности изоферментов АлДГ на 1 мг белка в печени животных из 3-й группы не было обнаружено значимых различий от контрольных величин (табл. 2). В то же время при сравнении с результатами, полученными у животных из 2-й группы, которые употребляли этанол, было зафиксировано существенное снижение как общей активности АлДГ (на 14%), так и АлДГ с низкой Км (на 46%).

Основываясь на полученных данных, можно заключить, что потребление этанола в течение трех недель в сочетании с ЭГВ приводит к уменьшению активности АлДГ как с низкой, так и с высокой Км. Эти результаты согласуются с выявленным достоверным увеличением активности редуктазной АДГ, в качестве субстрата которой является ацетальдегид: происходит замедление наработки ацетальдегида и активизируется процесс его восстановления. В пользу этого свидетельствует и то, что активность АлДГ с низкой $К_м$ не повышается значительно, что позволяет поддерживать концентрацию ацетальдегида на уровне, который не приводит к дополнительной активности фермента. Отмеченное ранее достоверное увеличение времени полувыведения этанола и уменьшение его константы элиминации подтверждает факт изменения метаболизма этанола в организме животных под действием комплекса полифенолов из гребней винограда. По-видимому, под действием растительных полифенолов из гребней винограда замедляется процесс наработки токсичного ацетальдегида в организме. Можно предположить, что биологическое воздействие, достигаемое при введении ЭГВ, проявляется в снижении образования токсичного ацетальдегида, что, по всей видимости, приводит к уменьшению выраженности симптомов интоксикации.

Основываясь на литературных данных [26, 27] и результатах собственных исследований [25], можно предположить, что именно катехино-проантоцианидиновый комплекс, преобладающий в составе полифенольной фракции экстракта, играет важную роль в процессе метаболизма этилового спирта в организме, оказывая воздействие на ферменты этанолокисляющей системы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют об участии ЭГВ, обогащенного комплексом полифенолов, в регуляции метаболизма этилового спирта в условиях хронической алкогольной интоксикации. Под воздействием ЭГВ наблюдалось снижение потребления этилового спирта животными как в условиях свободного доступа, так и принудительного контакта с этанолом. По-видимому, ЭГВ обладает способностью модифицировать токсическое действие этилового спирта, замедляя процесс его окисления и тем самым способствуя более равномерному образованию ацетальдегида. Исследование фармакокинетики этанола в крови крыс позволило установить, что

введение ЭГВ способствует замедлению процесса элиминации этанола из организма. При продолжительном употреблении алкоголя совместно с экстрактом у животных повышается редуктазная активность фермента АДГ в печени, что, вероятно, приводит к восстановлению ацетальдегида до этанола. Данный факт подтверждается тем, что активность АлДГ в печени крыс снижается, поскольку этот фермент индуцируется только собственным субстратом.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

С. Е. Ф. – разработка концепции эксперимента, сбор данных, получение, анализ и интерпретация данных с внесением существенного интеллектуального вклада, написание статьи; Н. Ф. К. – разработка концепции эксперимента, сбор данных, участие в редактировании статьи, одобрение финальной версии статьи; В. Г. С. – разработка концепции и дизайна работы, планирование эксперимента, обсуждение данных, редактировании статьи, техническая поддержка при проведении экспериментов с животными.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госзадания Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева Дальневосточного отделения РАН по теме “Экологические и биогеохимические процессы в экосистемах дальневосточных морей” (регистрационный номер 124022100077-0).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперимент проходил в строгом соответствии с принципами и международными рекомендациями, закрепленными в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных или иных научных целях (European Convention, 1986). Исследования с использованием животных были одобрены этической Комиссией Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева Дальневосточного отделения РАН (протокол № 22 от 15.02.2023 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Teschke R* (2018) Alcoholic Liver Disease: Alcohol Metabolism, Cascade of Molecular Mechanisms, Cellular Targets, and Clinical Aspects. Biomedicines 6(4): 106. https://doi.org/10.3390/biomedicines6040106
2. *Zhao J, Stockwell T, Naimi T, Churchill S, Clay J, Sherk A* (2023) Association Between Daily Alcohol Intake and Risk of All-Cause Mortality: A Systematic Review and Meta-analyses. JAMA Netw Open 6(3): e236185. https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.6185
3. *Lieber CS* (2009) Alcohol and the Liver: Metabolism of Ethanol, Metabolic Effects and Pathogenesis of Injury. Acta Med Scand 218: 11-55. http://dx.doi.org/10.1111/j.0954-6820.1985.tb08903.x
4. *Lieber CS* (2005) Metabolism of alcohol. Clin Liver Dis 9: 1–35. https://doi.org/10.1016/j.cld.2004.10.005
5. *Lieber CS* (2004) The discovery of the ethanol oxidizing system and its physiologic and pathologic role. Drug Metab Rev 36(3-4): 511–529. https://doi.org/10.1081/dmr-200033441

6. *Clemens DL, Forman A, Jerrels TR* (2002) Relationship between acetaldehyde levels and cell survival in ethanol-metabolizing hepatoma cells. Hepatology 35(5): 1196–1204. https://doi.org/10.1053/jhep.2002.32668
7. *French SW* (2000) Mechanism of alcoholic liver injury. Can J Gastroenterol 14(4): 327–332. https://doi.org/10.1155/2000/801735
8. *Lelevich SV, Borodinskii AN* (2009) Particuliarities of glycolysis in liver and skeletal muscle after acute alcohol intoxication in rats. Biomed Khim 55(1): 106–113.
9. *Шерлок Ш, Дули Дж* (2002) Заболевания печени и желчных путей. ЗГ Апросина НА Мухина (ред) М. Гэотар. Медицина. [*Sherlok SH, Duli Dzh* (2002) Diseases of the liver and bilary tract. ZG Aprosinoj, NA Muhina (eds) M. Geotar. Medicina. (In Russ)].
10. *Stewart SF, Day CP* (2004) Alcoholic liver disease. The liver in biology and disease. Princip Med Biol 15: 317–359.
11. *Sakai K, Yamane T, Saitoh Y, Ikawa C, Nishihata T* (1987) Effect of water extracts of crude drugs in decreasing blood ethanol concentrations in rats. Chem Pharm Bull 35(11): 4597–4604. https://doi.org/10.1248/cpb.35.4597
12. *Yamazaki T, Hosono T, Matsushita Y, Kawashima K, Someya M, Nakajima Y, Narui K, Hibi Y, Ishizaki M, Kinjo J, Nohara T* (2002) Pharmacological studies on Puerariae Flos. IV: Effects of Pueraria thomsonii dried flower extracts on blood ethanol and acetaldehyde levels in humans. Int J Clin Pharmacol Res 22(1): 23–28.
13. *Wen-Zhe Li, Jie Lu, Xiao-Yu Sun, Shi-Long Wang, Ya-Ming Ni, Wen-Si Zhu* (2006) Studies on the effect of extracts of several Chinese herbal medicines and other medicines on alcohol dehydrogenase activity. Zhong Yao Cai 29(8): 816–818.
14. *Panche AN, Diwan AD, Chandra SR* (2016) Flavonoids: an overview. J Nutr Sci 29(5): e47. https://doi.org/10.1017/jns.2016.41
15. *Фоменко СЕ, Кушнерова НФ, Спрыгин ВГ, Гордейчук ТН* (2003) Сравнительная оценка эффективности применения растительных комплексов для восстановления метаболических процессов в печени после поражения этиловым спиртом. Наркология 3: 37–42. [*Fomenko SE, Kushnerova NF, Sprygin VG, Gordejchuk TN* (2003) Comparative evaluation of the effectiveness of the use of herbal complexes for the restoration of metabolic processes in the liver after damage by ethyl alcohol. Narcology 3: 37–42. (In Russ)].
16. *Спрыгин ВГ* (2012) Применение олигомерных проантоцианидинов для профилактики метаболических нарушений углеводного обмена в печени крыс при поражении этиловым спиртом. Сибирск мед журн 111(4): 131–134. [*Sprygin VG* (2012) The use of oligomeric proanthocyanidins for the prevention of metabolic disorders of carbohydrate metabolism in the liver of rats affected by ethyl alcohol. Siber Med J 111(4): 131–134. (In Russ)].
17. *Nassiri-Asl M, Hosseinzadeh H* (2016) Review of the Pharmacological Effects of Vitis vinifera (Grape) and its Bioactive Constituents: An Update. Phytother Res 30: 1392–1403. https://doi.org/10.1002/ptr.5644
18. *Khadher TB, Aydi S, Mars M, Bouajila J* (2022) Study on the Chemical Composition and the Biological Activities of Vitis vinifera Stem Extracts. Molecules 27: 3109. http://dx.doi.org/10.3390/molecules27103109
19. *Lekakis J, Rallidis LS, Andreadou I, Vamvakou G, Kazantzoglou G, Magiatis P, Skaltsounis A-L, Kremastinos DT* (2005) Polyphenols Compounds from Red Grapes Acutely Improve Endothelial Function in Patients with Coronary Heart Disease. Eur J Prev Cardiol 12: 596–600. https://doi.org/10.1097/00149831-200512000-00013
20. *Mukherjee S, Das SK, Vasudevan DM* (2012) Dietary grapes (*Vitis vinifera*) feeding attenuates ethanol-induced oxidative stress in blood and modulates immune functions in mice. Ind J Biochem Biophys 49(5): 379–385.
21. *Suresh A, Chinnasamy V, Anbu S* (2019) Effect of grape leaf extract on the alcoholic induced lipid profile changes in rats. Pharma Innovat J 8(6): 371–375.
22. *Saadaoui N, Weslati A, Barkaoui T* (2019) Gastroprotective effect of leaf extract of two varieties grapevine (*Vitis vinifera* L.) native wild and cultivar grown in North of Tunisia against the oxidative stress induced by ethanol in rats. Biomarkers 25(1): 48–61. https://doi.org/10.1080/1354750x.2019.1691266
23. *Sun GY, Xia J, Xu J, Allenbrand B, Simonyi A, Rudeen PK, Sun AY* (1999) Dietary supplementation of grape polyphenols to rats ameliorates chronic ethanol-induced changes in hepatic morphology without altering changes in hepatic lipids. J Nutr 129(10): 1814–1819. https://doi.org/10.1093/jn/129.10.1814
24. *Laufenberg G, Kunz B, Nystroem M* (2003) Transformation of Vegetable Waste into Value Added Products; (A) the Upgrading Concept; (B) Practical Implementations. Bioresour Technol 87: 167–198. https://doi.org/10.1016/s0960-8524(02)00167-0

25. *Спрыгин ВГ, Кушнерова НФ* (2006) Природные олигомерные проантоцианидины – перспективные регуляторы метаболических нарушений. Вестн Дальневосточн отдел Рос акад наук 2(126): 81–90. [*Sprygin VG, Kushnerova NF* (2006) Natural oligomeric proanthocyanidins are promising regulators of metabolic disorders. Vestn Far Eastern Department Russ Acad Sci 2(126): 81–90. (In Russ)].
26. *Spranger I, Sun B, Mateus AM, Freitas V, Ricardo-da-Silva JM* (2008) Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds. Food Chem 108(2): 519–532. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.004
27. *Gonzalez-Centeno MR, Jourdes M, Femenia A, Simal S, Rossello C, Teissedre PL* (2012) Proanthocyanidin composition and antioxidant potential of the stem winemaking byproducts from 10 different grape varieties (Vitis vinifera L.). J Agric Food Chem 60: 11850–11858. https://doi.org/10.1021/jf303047k
28. *Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM* (1998) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. Methods Enzymol 299: 152–178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1
29. *Chandra S, Khan S, Avula B, Lata H, Yang MH, ElSohly MA, Khan IA* (2014) Assessment of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant Properties, and Yield of Aeroponically and Conventionally Grown Leafy Vegetables and Fruit Crops: A Comparative Study. Evid. Based Complement. Altern Med 4: 253875. http://dx.doi.org/10.1155/2014/253875
30. *Кампов-Полевой АБ* (1982) Изучение особенностей формирования алкогольной мотивации у крыс В: Фармакология экспериментального алкоголизма. ЮВ Буров (ред) М. 130–135. [*Kampov-Polevoj AB* (1982) The study of the peculiarities of alcohol motivation formation in rats. In: The pharmacology of experimental alcoholism. YuV Burov (ed) M. 130–135. (In Russ)].
31. *Власова НВ* (1982) Особенности кинетики этанола в крови крыс при экспериментальном алкоголизме. В: Фармакология экспериментального алкоголизма. ЮВ Буров (ред) М. 119–123. [*Vlasova NV* (1982) Features of ethanol kinetics in rat blood in experimental alcoholism. In: Pharmacology of experimental alcoholism. YuV Burov (ed) M. 119–123. (In Russ)].
32. *Ostrovsky YM, Pronko PS, Shishkin SN, Kolesnikov VB, Volynets SI* (1989) An attempt to evaluate diagnostic and prognostic significance of blood endogenous ethanol in alcoholics and their relatives. Alcohol 6(2): 97–102. https://doi.org/10.1016/0741-8329(89)90032-3
33. *Соловьев ВН, Фирсов АД, Филов ВА* (1980) Фармакокинетика. М. Медицина. [Solov'ev VN, Firsov AD, Filov VA (1980) Farmakokinetiks. M. Medicina. (In Russ)].
34. *Shimasue A, Murakami M, Tsubokura TA* (1972) Specific method for the assay of alcohol dehydrogenase in human liver and serum. Hiroshima J Med Sci 21(4): 131–140.
35. *Tottmar CSO, Pettersson H, Kiessling KH* (1973) The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenases in rat liver. Biochem J 135(4): 577–586. https://doi.org/10.1042/bj1350577a
36. *Razvdovskiĭ Iu E, Doroshenko EM* (2007) Effect of taurine on the pool of central neuroactive compounds during ethanol withdrawal syndrome. Eksp Klin Farmakol 70(5): 38–43. [In Russ].
37. *Bardina LR, Pron'ko PS, Satanovskaia VI, Alieva EV* (2010) Effects of catalase activators and inhibitors on ethanol pharmacokinetic characteristics and ethanol and aldehyde-metabolizing enzyme activities in the rat liver and brain. Biomed Khim 56(4): 499–505. [Article in Russ].
38. *Буров ЮВ, Абсаева ГИ, Кампов-Полевой АБ, Клюев СМ* (1981) Элиминация этанола у белых крыс с различным уровнем алкогольной мотивации. Фармакол токсикол 44(1): 50–51. [*Burov YV, Absaeva GI, Kampov-Polevoj AB, Klyuev SM* (1981) Elimination of ethanol in white rats with different levels of alcohol motivation. Pharmacol Toxicol 44(1): 50–51. (In Russ)].
39. *Weiss F, Porrino LJ* (2002) Behavioral neurobiology of alcohol addiction: Recent advances and challenges. J Neurosci 22(9): 3332–3337. https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-09-03332.2002
40. *Morales-Gonzalez JA, Gutierrez-Salinas J, Hernandez-Munoz R* (1998) Pharmacokinetics of the ethanol bioavailiability in the regenerating rat liver induced by partial hepatectomy. Alcohol Clin Exp Res 22: 1557–1563. https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1998.tb03949.x.
41. *Островский ЮМ, Сатановская ВИ* (1988) Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя. Минск. Наука и техника. [*Ostrovskij YuM, Satanovskaya VI* (1988) Metabolic background and consequences of alcohol consumption. Minsk. Science and Technology. (In Russ)].
42. *Pietruszko R* (1980) Alcohol and aldehyde dehydrogenase isozymes from mammalian liver-their structural and functional differences. Isozymes Curr Top Biol Med Res 4: 107–130.

43. *López-Valencia V, Rangel P, Rodríguez S, Hernández-Muñoz R* (2007) Involvement of alcohol and aldehyde dehydrogenase activities on hepatic retinoid metabolism and its possible participation in the progression of rat liver regeneration. Biochem Pharmacol 73(4): 86–96. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.10.021

Polyphenols from *Vitis vinifera* L. Grape Stems Regulate Alcohol Metabolism and Reduce Its Toxic Effects in Rats

S. E. Fomenko[a, *], N. F. Kushnerova[a], and V. G. Sprygin[a]

[a]Ilyichev Pacific Oceanological Institute FEB RAS, Vladivostok, Russia
**e-mail: fomenko29@mail.ru*

The study examined the effect of *Vitis vinifera* L. grape stem (bunch after berry separation) extract enriched with a polyphenol complex on ethanol elimination and the activity of alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (AlDH) in rat liver under chronic alcohol intoxication. The total content of polyphenols in the resulting extract was 53.12 ± 1.25 mg GAE/g dw extract (mg-equivalent of gallic acid/g) and flavonoids – 8.02 ± 2.6 mg GAE/g dw extract (mg-equivalent of quercetin/g). Under the influence of 5% grape stem extract (GSE) added to a 15% ethanol solution, a decrease in ethyl alcohol consumption by animals was observed, both under conditions of free access and forced contact with ethanol. Comparative analysis of ethanol pharmacokinetic parameters in rats showed that the addition of GSE leads to a decrease in ethanol elimination from the body, as evidenced by an increase in the half-life ($T_{1/2}$) and a decrease in the ethanol elimination constant (K_{el}) in the blood. It was found that the complex of polyphenols contained in plant extracts plays a major role in the processing of ethyl alcohol in other animals, being exposed to enzymes that occur in its oxidation. The action of GSE leads to an increase in the reductase activity of ADH in the liver, which helps prevent the accumulation of highly toxic acetaldehyde in the body. This fact is confirmed by a decrease in the activity of the AlDG enzyme in the liver of rats with both low and high Michaelis constants. The polyphenol complex isolated from grape stem can serve as an effective means of protecting the body from the toxic effects of high doses of ethyl alcohol.

Keywords: polyphenols, *Vitis vinifera*, ethanol, crests, rats