

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ НАРУШЕНИЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА

Банзаракшеев В.Г., Седунова Е.Г.

ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет Минобрнауки России», Медицинский институт, Улан-Удэ, e-mail: gambalovi4@mail.ru

В статье представлена патофизиологическая оценка результатов моделирования дислипидемии у крыс. В эксперименте установлено, что дислипидемии, индуцированные адреналином гидрохлорида, гидрокортизоном ацетата и назначением атерогенной диеты, сопровождаются повышением содержания в крови общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП), снижением холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), а также повышением концентрации малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК), повышением содержания в крови модифицированных липопротеинов низкой плотности и снижением активности каталазы. Проведена оценка фармакотерапевтической эффективности многокомпонентного фитосбора при индуцированных дислипидемиях. Курсовое профилактическое введение фитосредства уменьшает содержание ОХС, ТГ, ХС ЛПНП, повышает ХС ЛПВП. Кроме того, средство ингибирует образование продуктов перекисного окисления липидов и повышает антиокислительный потенциал.

Ключевые слова: дислипидемия, перекисное окисление липидов, антиоксиданты, фитосредство.

PATHOPHYSIOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPY OF LIPID METABOLISM DISORDERS

Banzaraksheev V.G., Sedunova E.G.

Buryat State University, Medical Institute, Ulan-Ude, Russia, e-mail: gambalovi4@mail.ru

The article presents the pathophysiological assessment of dyslipidemia simulation results found in rats. In the experiment found that dyslipidemias induced by adrenaline hydrochloride, hydrocortisone acetate and prescribed atherogenic diets are accompanied by the increase of total cholesterol (TC) in blood, triglycerides (TG), low density lipoproteins (LDL) cholesterol, and by the decrease of high density lipoproteins (HDL) cholesterol. They are also followed by the increasing concentration of malondialdehyde's (MDA), diene conjugates (DC), modified low density lipoproteins in blood, and by the decreasing activity of catalase. The evaluation of the pharmacotherapeutic efficiency of multicomponent phytotherapy for induced dyslipidemias was conducted. The course preventive administration of the phytoremedy results in decrease of the TC, TG, LDL cholesterol content and increase of HDL cholesterol. Besides, the remedy inhibits the formation of products of lipid peroxidation and increases the antioxidant potential.

Keywords: dyslipidemia, lipid peroxidation, antioxidants, phytoremedy.

Несмотря на возможности современной фармакотерапии и успехи в понимании патогенеза сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний, атеросклероз, как их этиологическая основа, остается основной причиной инвалидизации и высокой смертности населения всех стран мира, в том числе и России [7].

Общеизвестно, что одним из ведущих факторов риска атеросклероза, вне зависимости от пола и социально-этнических условий, является дислипидемия, сопровождающаяся интенсификацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижением антиоксидантной защиты (АОЗ) организма. В этом случае активация свободнорадикальных реакций приводит, с одной стороны, к усиленному образованию эндогенных прооксидантов, а с другой - к снижению эффективности функционирования антиоксидантных систем

детоксикации свободных радикалов. Нарушение деятельности звеньев этой слаженной многоступенчатой системы может приводить к возникновению оксидативного стресса, индуцирующего при атерогенезе модификацию наиболее подверженных перекислению мелких и плотных липопротеинов низкой плотности [5; 10].

В настоящее время для подавления процессов перекисидации возможно использование не только синтетических, но и природных антиоксидантов различной химической структуры. В этом плане перспективными являются многокомпонентные средства растительного происхождения, которые благодаря сбалансированному составу и синергизму содержащихся в них биологически активных веществ оказывают более мягкое и многостороннее действие на различные функциональные системы организма [2].

Цель исследования – экспериментальная оценка патофизиологии и фармакотерапевтической эффективности нарушений липидного обмена у крыс.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180-190 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при одинаковом уходе и питании, световом и температурном режиме в соответствии с Приказом МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Экспериментальные исследования проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г.) и «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986).

На лабораторных животных контрольной и опытной групп были индуцированы модели дислипидемий: 1) путем однократного внутрибрюшинного введения раствора адреналина гидрохлорида в дозе 1,5 мг/кг; 2) инъекцией суспензии гидрокортизона ацетата в дозе 5 мг/кг; 3) назначением атерогенной диеты в течение 12 недель с ежедневным внутривенным введением холестерина в дозе 0,1 г/100 г массы, 1 мл/100 г массы 3,5%-ной жирности молока и 30000 ЕД/100 г витамина D₂ [5].

Для оценки эффективности фармакотерапии липидного дисметаболизма использован многокомпонентный фитосбор, в состав которого входят цветки *Calendula officinalis* L., бутоны *Eugenia caryophyllata* Thunb., плоды *Crataegus sanguinea* Pall., плоды *Malus baccata* (L.) Borkh., корни *Valeriana officinalis* L., корневища *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., цветки и плоды *Rosa* sp. и др. Указанное средство применяли в форме отвара профилактическим курсом в объеме 1 мл/100 г массы 1 раз в сутки: при адреналиновой и гидрокортизоновой дислипидемиях в течение 7 дней, при атерогенно-индуцированной дислипидемии на

протяжении всего срока эксперимента [6]. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество воды очищенной по аналогичной схеме.

Кровь для лабораторных исследований у животных забирали через 30 минут после инъекции адреналина гидрохлорида, через 5 часов после введения гидрокортизона ацетата и спустя 12 часов после последнего приема животными атерогенной диеты.

Для оценки состояния липидного обмена в крови животных определяли содержание общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ) и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) ферментативным методом, холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) рассчитывали по общепринятой формуле Фридвальда [3].

Антиоксидантный статус изучали по степени ингибирования образования продуктов ПОЛ: содержание диеновых конъюгатов (ДК) в сыворотке крови определяли путем экстрагирования смесью гептан-изопропанол и последующим измерением оптической плотности при длине волны 233 нм [1].

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в крови определяли в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) путем измерения концентрации ТБК-активных продуктов при длине волны 532 нм по степени образования окрашенного комплекса с ТБК [8].

Активность каталазы в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом [4].

Уровень модифицированных ЛПНП (мЛПНП) в крови крыс определяли фотометрическим методом с раствором поливинилпирролидона и регистрацией степени помутнения смеси [9].

Полученные данные статистически обработаны общепринятыми методами для малой выборки с определением средней величины и средней арифметической ошибки. Достоверность результатов оценивали с применением t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Введение крысам адреналина гидрохлорида сопровождалось выраженным дисбалансом липидного обмена, патофизиологические механизмы которого обусловлены усилением процессов гликогенолиза, глюконеогенеза, а также торможением утилизации глюкозы тканями [3; 6]. Указанные дисметаболические расстройства повышают липолиз жировой ткани с высвобождением в кровь свободных жирных кислот, что приводит к усилению синтеза ТГ и тем самым увеличению в кровотоке атерогенной фракции ЛПНП. Так, на фоне введения адреналина в контрольной группе крыс наблюдалось увеличение содержания ОХС на 35%, ТГ на 45%, ХС ЛПНП на 38%, наряду с этим уровень антиатерогенного ХС ЛПВП снижался на 26% по сравнению с показателями в интактной группе животных (табл. 1).

Влияние фитосредства на показатели липидного обмена,
ПОЛ и АОЗ у крыс при адреналиновой дислипидемии

Показатели	Группы животных		
	Интактная (n=8)	Контрольная (n=8)	Опытная (n=8)
ОХС, ммоль/л	2,79± 0,14	3,78± 0,10	2,71± 0,11*
ТГ, ммоль/л	0,65± 0,04	0,94± 0,10	0,73± 0,03*
ХС ЛПВП, ммоль/л	2,16± 0,10	1,59± 0,12	1,89± 0,11*
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,70± 0,01	0,97± 0,15	0,58± 0,11*
Малоновый лиальдегид, мкМ/мл мин	2,04±0,11	2,89±0,30	1,83±0,22
Диеновые конъюгаты, ед. опт. пл.	1,37±0,06	1,86±0,09	1,33±0,05
Каталаза, мКат/мл	0,41±0,03	0,34±0,04	0,39±0,02*

Примечание: * - здесь и далее разность достоверна по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$

Как следует из данных табл. 1, превентивное введение фитосредства сопровождалось у опытной группы крыс снижением содержания ТГ на 22%, ХС ЛПНП на 40%, вместе с тем уровень ХС ЛПВП повышался на 19%.

Широкий спектр действия глюкокортикоидов на обменные процессы, в частности на метаболизм липидов, послужил предпосылкой для изучения фармакотерапевтической эффективности фитосредства при гидрокортизоновой дислипидемии. В данной модели механизмы нарушений липидного баланса связаны с тем, что гидрокортизона ацетат обладает способностью увеличивать липолиз с выбросом в кровь неэстерифицированных жирных кислот и последующим усилением синтеза ТГ и атерогенных ЛПНП [6]. Динамику показателей липидного обмена у крыс при введении им гидрокортизона ацетата отражают данные липидограммы контрольной группы крыс в виде повышения ОХС на 32%, ТГ на 40%, ХС ЛПНП на 34% и снижения ХС ЛПВП на 13%.

Вместе с тем профилактический прием животными фитосредства приводил к уменьшению содержания ОХС на 19%, ТГ на 31%, атерогенного ХС ЛПНП на 34% и незначительному повышению антиатерогенного ХС ЛПВП (табл. 2).

Влияние фитосредства на показатели липидного обмена, ПОЛ и АОЗ у крыс при гидрокортизоновой дислипидемии

Показатели	Группы животных		
	Интактная (n=8)	Контрольная (n=8)	Опытная (n=8)
ОХС, ммоль/л	1,88± 0,31	2,48± 0,19	2,00± 0,17
ТГ, ммоль/л	0,30± 0,03	0,42± 0,02	0,29± 0,11*
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,41± 0,12	1,23± 0,17	1,32± 0,02
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,41± 0,03	0,55± 0,05	0,36± 0,03*
Малоновый лиальдегид, мкМ/мл мин	2,14±0,15	2,72±0,17*	1,85±0,07*
Диеновые конъюгаты, ед. опт. пл.	1,42±0,09	2,00±0,32	1,46±0,06
Каталаза, мКат/мл	0,78±0,05	0,53±0,12	0,67±0,04*

Общеизвестно, что дислипидемия, как мощный эндогенный прооксидант, способен активировать процессы пероксидации и окислительную модификацию ЛПНП, тем самым повышая их атерогенность и способность аккумулироваться в моноцитах-макрофагах, что вызывает развитие липоидоза на ранних стадиях атерогенеза [5; 10].

Дальнейший анализ результатов эксперимента, представленных в табл. 1 и 2, показал, что введение индукторов сопровождалось не только выраженным развитием дислипидемий, но и приводило к активации свободнорадикальных реакций с избыточным образованием первичных и вторичных продуктов перекисления. Так, в табл. 1 показано, что адреналиновая дислипидемия приводила к повышению в крови животных концентрации ТБК-активных продуктов - МДА на 42%, ДК на 36%, а также к угнетению до 17% активности каталазы. Наряду с этим из табл. 2 видно, что на модели гидрокортизоновой дислипидемии в аналогичной группе животных также были выявлены существенные сдвиги параметров антиоксидантной системы в виде возрастания МДА и ДК на 27 и 41% соответственно и снижения активности каталазы до 32%.

Вместе с тем следует отметить, что на фоне указанных метаболических расстройств курсовая превентивная фитотерапия достоверно снижала интенсивность свободнорадикальных реакций и повышала антиокислительный потенциал организма крыс.

В опытной группе крыс с адреналин-индуцированной дислипидемией наблюдалось уменьшение содержания МДА и ДК на 37 и 28% соответственно, а активность каталазы возрастала на 15%. Вместе с тем при гидрокортизоновой дислипидемии скорость накопления МДА снижалась на 32% и ДК на 27% с нарастанием активности ключевого фермента каталазы на 26%.

Как известно, избыточное и несбалансированное питание, а также высокая калорийность животных жиров определяет как развитие и выраженность постпрандиальной дислипидемии, так и нарушение механизмов утилизации этих компонентов пищи и запуск порочного круга дисметаболизма липидов [3; 6]. В ходе проведенных нами исследований установлено, что 12-недельное назначение крысам атерогенной диеты сопровождалось существенным расстройством у них липидного обмена как закономерного результата патофизиологических нарушений процессов абсорбции и транспорта экзогенных липидов (табл. 3).

Таблица 3

Влияние фитосредства на показатели липидного обмена, ПОЛ и АОЗ у крыс при дислипидемии, индуцированной атерогенной диетой

Показатели	Группы животных		
	Интактная (n=8)	Контрольная (n=8)	Опытная (n=8)
ОХС, ммоль/л	1,76±0,40	2,09±0,05*	1,62±0,17
ТГ, ммоль/л	2,82±0,14	4,07±0,23	2,36±0,35
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,63±0,12	1,29±0,21	1,51±0,15
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,17±0,01*	0,23±0,07	0,14±0,02*
мЛПНП,ЕД	54,7±2,3	91,8±3,12	61,5±1,74*

Из приведенных данных в табл. 3 следует, что алиментарная жировая нагрузка у крыс характеризовалась значительными лабораторными признаками дислипидемии. Так, в липидограмме контрольной группы животных содержание ТГ увеличивалось на 44%, уровень ОХС возрастал на 19%, причем атерогенный ХС ЛПНП повышался на 35%, а содержание антиатерогенного ХС ЛПВП снижалось до 21%. Результаты экспериментальной фитотерапии показали, что профилактический прием средства достоверно нормализует показатели липидного обмена крыс. В частности, содержание ОХС

снижалось на 22%, ТГ на 42%, уровень ХС ЛПНП уменьшался на 39%, ХС ЛПВП возрастал на 17%.

Известно, что состояние длительной дислипидемии способно активировать действие активных форм кислорода и приводить к усилению пероксидации наиболее атерогенной фракции ЛПНП [5]. Патофизиология перекисно-модифицированных ЛПНП заключена в их атерогенности посредством усиленного макрофагального фагоцитоза и прямой цитотоксичности по отношению к клеткам эндотелия [10]. Из табл. 3 видно, что 12-недельная индукция дислипидемии, помимо вышеуказанных нарушений липидного обмена, приводила к возрастанию в крови в 1,67 раза уровня мЛПНП в сравнении с данными в интактной группе крыс. Одновременно с этим курсовая фитотерапия атерогенно-индуцированной дислипидемии сопровождалась уменьшением содержания в крови животных опытной группы мЛПНП на 33%.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что патофизиологические механизмы адреналиновой, гидрокортизоновой и атерогенной моделей дислипидемий заключены в их прооксидантных свойствах угнетения АОЗ и запуска оксидативного стресса с активацией процессов пероксидации.

При этом установлено, что фитотерапия при экспериментальных дислипидемиях оказывает благоприятное влияние на показатели липидного обмена у крыс. В частности, курсовое превентивное введение многокомпонентного средства достоверно снижает в крови животных уровень ОХС, ТГ, атерогенной фракции ЛПНП и повышает содержание антиатерогенного ХС ЛПВП. Кроме того, назначение комплексного сбора при дислипидемиях препятствует избыточному накоплению ТБК-активных продуктов, повышает эндогенные резервы антиоксидительного потенциала и тем самым предотвращает окислительную модификацию атерогенного класса липопротеинов.

По всей видимости, используемое комплексное фитосредство, благодаря сложному химическому составу и рациональному сочетанию в них биологически активных веществ, оказывает многостороннее действие на организм лабораторных животных [2]. Можно предположить, что содержание в компонентах фитосбора биологически активных соединений, прежде всего фенольной природы, ингибирует патофизиологические процессы перекисления липидов, что обеспечивает его антидислипидемический эффект.

Результаты проведенных экспериментальных исследований позволяют полагать, что понимание сущности патофизиологических процессов при дислипидемиях, несомненно, будет способствовать реализации рациональной патогенетической профилактики и терапии нарушений липидного обмена.

Список литературы

1. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабор. дело. - 1983. - № 3. - С. 33-35.
2. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шретер А.И. Биологически активные вещества растительного происхождения. - М. : Медицина, 2001. - Т. 2. – 764 с.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. - Минск : Беларусь, 2000. - 463 с.
4. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Методы определения активности каталазы // Лабор. дело. - 1988. - № 1. – С. 16-19.
5. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. – Новосибирск : Арта, 2008. – 284 с.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - М. : Медицина, 2005. - 832 с.
7. Сизова Ж.М. Комплексная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний // Врач – 2011. - № 8. – С. 31-34.
8. Темирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лабор. дело. - 1981. - № 4. - С. 209-211.
9. Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф., Пальцын А.А. Простой способ определения модифицированных липопротеинов низкой плотности // Пат. физиол. и экспер. терапия. – 2012. - № 2. – С. 77-82.
10. Virella G., Lopes-Virella M.F. Atherosclerosis and humoral immune response to modified lipoproteins // Atherosclerosis. - 2008. – Vol. 200. - P. 239-246.