

## ВЛИЯНИЕ ЛЮДАРИНА И ГРОССГЕМИНА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНУЮ ГИПЕРЛИПИДЕМИЮ, ИНДУЦИРОВАННУЮ ТРИТОНОМ WR 1339

А.В. Ратькин<sup>1</sup>, О.А. Кайдаш<sup>1</sup>, В.В. Иванов<sup>1</sup>, В.С. Чучалин<sup>1</sup>,  
С.М. Адекенов<sup>2</sup>, А.И. Венгеровский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России  
634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup>АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия»  
Республика Казахстан, г. Караганда, ул. М. Газалиева, 4

Исследовано гиполлипидемическое действие сесквитерпеновых  $\gamma$ -лактонов людартина и гроссгемина в экспериментах *in vivo* на модели острой гиперлипидемии, индуцированной триптоном WR 1339. Модель гиперлипидемии, вызываемая триптоном WR 1339, характеризуется резким повышением содержания в сыворотке крови триацилглицеридов и общего холестерина, главным образом за счет увеличения содержания холестерина в проатерогенной фракции липопротеидов низкой плотности. Гиполлипидемическое действие людартина и гроссгемина на фоне индуцированной триптоном WR 1339 гиперлипидемии, как и препарата сравнения фенофибрата, проявляется снижением содержания триацилглицеридов и проатерогенного холестерина в липопротеидах низкой плотности в сыворотке крови, а также уменьшением количества триацилглицеридов и холестерина в печени крыс.

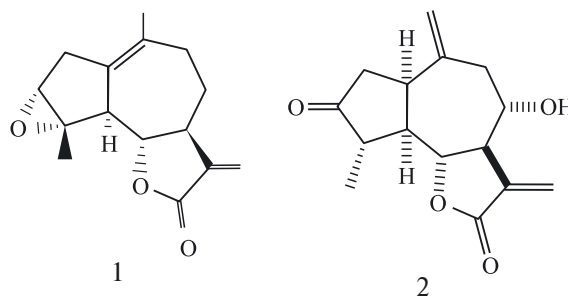
**Ключевые слова:** людартин, гроссгемин, тритон WR 1339, гемфиброзил, сесквитерпеновые  $\gamma$ -лактоны, экспериментальная гиперлипидемия, гиполлипидемическое действие.

### ВВЕДЕНИЕ

Гиперлипидемия (гиперлипопротеинемия, дислипидемия) — это комплексное метаболическое расстройство, характеризующееся патологически повышенным уровнем липидов в плазме крови и/или нарушением их соотношения [1]. Важным фактором риска развития и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз, инфаркт миокарда, гипертония, является атерогенная дислипидемия, проявляющаяся в виде «липидной триады» — сочетания гипертриацилглицеридемии, низкого уровня холестерина в липопротеидах высокой плотности (ХС ЛПВП) и повышенного содержания атерогенных липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) [2]. Проблема терапии гиперлипидемии еще полностью не решена, несмотря на большое разнообразие синтетических гиполлипидемичес-

ких препаратов на фармацевтическом рынке [3]. Поэтому является перспективным поиск новых гиполлипидемических средств.

Сесквитерпеновые лактоны гваянового ряда — людартин (1) и гроссгемин (2), могут обладать гиполлипидемическим потенциалом и являться перспективным источником для создания противоатеросклеротических средств.



**Ратькин Александр Валентинович** — канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической технологии, e-mail: ratkin@ssmu.ru

**Кайдаш Ольга Александровна** — аспирант кафедры фармакологии

**Иванов Владимир Владимирович** — канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии

**Чучалин Владимир Сергеевич** — д-р фарм. наук, декан фармацевтического факультета, зав. кафедрой фармацевтической технологии, e-mail: phtech@ssmu.ru

**Адекенов Сергазы Мынжасарович** — д-р хим. наук, проф., академик НАН РК, председатель правления АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», e-mail: phyto\_pio@mail.ru

**Венгеровский Александр Исаакович** — д-р мед. наук, проф. зав. кафедрой фармакологии

© Ратькин А.В., Кайдаш О.А., Иванов В.В., Чучалин В.С., Адекенов С.М., Венгеровский А.И., 2015

Одним из подходов для моделирования острой гиперлипидемии на животных является модель, воспроизводимая однократным введением тритона WR 1339, основанная на ингибировании детергентом активности липопротеинлипазы [4]. Данная модель характеризуется значительным увеличением концентрации проатерогенных фракций и субфракций холестерина в липопротеидах и является перспективной для тестирования гиполлипидемических препаратов [5].

Целью настоящего исследования явилось изучение гиполлипидемического действия людартина и гроссгемина в экспериментах *in vivo* на модели острой гиперлипидемии, индуцированной тритоном WR 1339.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали сесквитерпеновые лактоны – людартин и гроссгемин, полученные в АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» (Республика Казахстан) [6].

*Модель острой гиперлипидемии in vivo, индуцированной введением крысам тритона WR 1339.* Эксперименты выполнены на 36 белых крысах-самцах Wistar 1 конвенциональной категории массой 280–320 г, полученных из отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (г. Томск). Животные содержались в стандартных условиях при свободном доступе к воде и пище (температура воздуха в виварии  $20 \pm 2$  °С, влажность – не более 80 %).

Экспериментальные животные получали внутрижелудочно сесквитерпеновые лактоны людартин или гроссгемин в дозе 10 мг/кг и препарат сравнения фенофибрат («Трайкор», Франция) (100 мг/кг) в виде раствора в 0,5 % крахмальной слизи в течение 7 дней. Контрольная и группа 2 (введение тритона WR 1339) крыс получали эквивалентные количества 0,5 % раствора крахмальной слизи. На 8-е сутки через час после последнего введения препаратов животным всех групп, за исключением контрольной, внутрибрюшинно вводили детергент тритон WR 1339 в дозе 200 мг/кг. Животным группы контроля внутрибрюшинно вводили 1 мл 0,9 % раствора NaCl. Через 24 ч крыс умерщвляли асфиксией в атмосфере углекислого газа и в сыворотке крови определяли содержание триацилглицеридов (ТАГ) и общего холестерина (ХС) с помощью ферментативных наборов фирмы Chronolab (Испания) согласно протоколам, прилагаемым к наборам. Холестерин в липопротеидах низкой и высокой плотности (ХС ЛПНП и ХС ЛПВП) определяли прямым ферментативным колори-

метрическим методом с помощью наборов «LD-Cholesterol» и «HDL-Cholesterol» фирмы Chronolab (Испания), рассчитывали соотношение ХС ЛПВП/ ХС ЛПНП и индекс атерогенности (ИА) по О. Haglund.

Для определения содержания ТАГ и ХС в ткани печени липидную фракцию из навесок печени (250 мг) экстрагировали по методу J. Folch смесью хлороформ–метанол (2:1). К хлороформной фазе добавляли 20%-й раствор детергента Thesit® (Sigma Aldrich) в хлороформе для эмульгирования липидов [7]. Хлороформ удаляли потоком азота и содержание ТАГ и ХС определяли ферментативными методами с помощью наборов фирмы Chronolab.

Результаты исследования обрабатывали с использованием программ Graph Pad Prism 5.0 и SPSS Statistics 17.0. Результаты представлены в виде выборочного среднего ( $M$ ) и ошибки среднего ( $m$ ). Равенство выборочных средних проверяли с применением U-критерия Манна–Уитни для малых групп. Статистически значимые считали различия при уровне значимости  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Введение тритона WR 1339 крысам приводит к резкому повышению через 24 ч уровня общего холестерина и особенно ТАГ – в 29 раз (таблица). Это свидетельствует о выраженном развитии гиперлипидемии, что обусловлено способностью тритона ингибировать активность липопротеинлипазы (ЛПЛ) и, таким образом, препятствовать утилизации липопротеидов, богатых триглицеридами и холестерином [4, 5]. В сыворотке крови животных наиболее выражено, почти в 10 раз, повышалось содержание холестерина в проатерогенной фракции ХС ЛПНП, концентрация холестерина в антиатерогенной фракции ХС ЛПВП увеличивалась в гораздо меньшей степени. Соотношение ХС ЛПВП/ХС ЛПНП снизилось в 5,21 раза, индекс атерогенности увеличился в 2,9 раза. В печени крыс также повысилось количество ТАГ и ХС на 44 и 16 % соответственно (см. таблицу). Известно, что тритон WR 1339 наряду с ингибированием липазы повышает абсорбцию холестерина из кишечника, усиливает синтез эндогенного холестерина за счет активации рецепторов, влияющих на уровень ЛПНП [8].

Фенофибрат, как и другие препараты группы дериватов фиброевой кислоты, является агонистом ядерных  $\alpha$ -рецепторов, активирующих пролиферацию пероксисом (PPAR- $\alpha$ ) [3] и оказывает влияние преимущественно на обмен липопротеиновых частиц, богатых ТАГ (хиломикроны, липопротеиды очень низкой и про-

**Влияние фенофибрата, лодартина и гроссгемина на уровень ТАГ, общего ХС и ХС ЛПНП и ХС ЛПВП в сыворотке крови и в ткани печени крыс при экспериментальной острой гиперлипидемии, вызванной тритоном WR 1339 ( $X \pm m$ ,  $n = 9$ )**

Показатель	Экспериментальная группа				
	Контроль (крахмальная слизь)	Тритон + крахмальная слизь	Фенофибрат + тритон	Людартин + тритон	Гроссгемин + тритон
Сыворотка крови					
ТАГ, ммоль/л	0,84±0,13	24,27±2,96*	3,98±0,32*	9,36±1,47*	17,25±1,52*
Общий ХС, ммоль/л	2,13±0,19	6,35±0,67*	2,21±0,14*	3,58±0,37*	5,07±0,64
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,21±0,02	1,9±0,29*	0,34±0,01*	0,4±0,05*	0,46±0,06*
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,08±0,07	1,76±0,24*	1,21±0,06*	1,02±0,14*	1,82±0,26
ХС ЛПВП/ХС ЛПНП	5,21±0,25	1,0±0,1*	3,56±0,18*	2,56±0,26*	4,06±0,46*
ИА	0,99±0,1	2,86±0,36*	0,84±0,1*	2,67±0,27	1,84±0,23*
Ткань печени					
ТАГ, мг/г	4,87±0,33	7,02±0,22*	3,43±0,39*	4,63±0,27*	3,63±0,34*
Общий ХС, мг/г	1,94±0,06	2,25±0,12*	1,43±0,05*	1,78±0,07*	1,69±0,12*

Примечание. \* –  $p < 0,05$  для тритона по сравнению с интактными животными, для фенофибрата и лактонов по сравнению с тритоном;  $n$  – количество животных в группе.

межуточной плотности). В результате активации PPAR- $\alpha$  происходит увеличение экспрессии гена фермента ЛПЛ и снижение экспрессии гена апо СIII – ингибитора фермента ЛПЛ, за счет чего увеличивается липолиз ТАГ-богатых липопротеидов [8, 9]. Так же происходит увеличение экспрессии генов ферментов, вовлеченных в  $\beta$ -окисление жирных кислот в печени и мышцах, что приводит к снижению синтеза ТАГ из жирных кислот в печени и, следовательно, сборки и секреции липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) [3].

Курсовое введение лодартина, гроссгемина и препарата сравнения фенофибрата приводит к снижению уровня ТАГ в сыворотке крови экспериментальных животных на фоне развития острой гиперлипидемии на 61,4, 28,9 и 83,6 % соответственно (см. таблицу).

Фенофибрат на фоне введения тритона снижает уровень общего холестерина в сыворотке крови на 65 %, преимущественно за счет уменьшения проатерогенной фракции (ХС ЛПНП снижается на 82 %, а ХС ЛПВП – на 31 %), и индекс атерогенности на 70,6 %. Это обусловлено способностью фибратов увеличивать синтез апоАI и АII в ЛПВП, что приводит к ускорению обратного транспорта холестерина из тканей в печень. Наряду с этим снижение количества ХС ЛПНП под действием фенофибрата происходит за счет уменьшения количества мелких плотных частиц ЛПНП и увеличения количества больших, менее плотных ЛПНП, что повышает их «узнаваемость» рецепторами печени и улучшает

катаболизм [9]. Введение фенофибрата приводило к снижению уровня ТАГ и ХС в печени на 51 % ( $p < 0,01$ ) и 36 % ( $p < 0,01$ ) соответственно (см. таблицу).

Курсовое введение гроссгемина на фоне острой гиперлипидемии не приводило к значимому снижению уровня общего холестерина, несмотря на существенное снижение уровня проатерогенного ХС ЛПНП на 75,5 %, вероятно, вследствие того, что антиатерогенный ХС ЛПВП в сыворотке крови остается повышенным (см. таблицу). Гроссгемин снижал индекс атерогенности на 35,7 %, содержание ТАГ и ХС в печени крыс уменьшалось на 48 и 25 % соответственно (см. таблицу).

Введение лодартина снижало уровень общего холестерина в сыворотке крови крыс на 43,7 %, холестерина в ЛПВП – на 41,9 %. Людартин достоверно снижал содержание ТАГ и ХС в печени при острой гиперлипидемии, индуцированной тритоном WR 1339, на 34,1 и 20,8 % соответственно, однако не оказывал существенного влияния на индекс атерогенности сыворотки крови.

Гроссгемин и лодартин повышали отношение ХС ЛПВП/ХС ЛПНП на фоне индуцированной детергентом WR 1339 гиперлипидемии в 3 и 1,5 раза соответственно.

Таким образом, оба исследованных сесквитерпеновых лактона проявили гиполлипидемическую активность на модели гиперлипидемии, индуцированной у крыс тритоном WR 1339, и препятствовали развитию большинства биохимических

мических нарушений в сыворотке крови и ткани печени крыс.

#### ВЫВОДЫ

Людартин и гроссгемин на модели острой гиперлипидемии, индуцированной у крыс тритоном WR 1339, оказывают гиполлипидемическое действие, проявляющееся снижением содержания триацилглицеридов и проатерогенного холестерина в липопротеидах низкой плотности в сыворотке крови, а также уменьшением количества триацилглицеридов и холестерина в печени крыс с индуцированной тритоном WR 1339 гиперлипидемией.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Николаев И.В., Мулюкова Р.В., Каюмова Л.Р. и др. Анализ взаимодействия аллелей генов липидного обмена при дислипидемии // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2014. Т. 18, № 4/2. С. 856–866.
2. Буверова Е.Л., Драпкина О.М., Ивашкин В.Т. Атерогенная дислипидемия и печень // Рос. мед. вести. 2008. Т. 13, № 1. С. 17–23.
3. Ahn C.H., Choi S.H. New drugs for treating dyslipidemia: beyond statins // Diabetes Metab. J. 2015. Vol. 39, N 2. P. 87–94.
4. Короленко Т.А., Тузиков Ф.В., Васильева Е.Д. и др. Изменения фракционного состава липопротеинов сыворотки крови мышей и крыс при липемии, вызванной Тритоном WR 1339 // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2010. Т. 149, № 5. С. 499–502.
5. Логинова В.М., Тузиков Ф.В., Тузикова Н.А. и др. Влияние аторвастатина на липиды сыворотки крови мышей при экспериментальной липемии // Бюл. СО РАМН. 2011. Т. 31, № 2. С. 133–137.
6. Адеменов С.М. Сесквитерпеновые лактоны из эндемичных видов семейства Asteraceae // Химия природ. соединений. 2013. № 1. С. 140–143.
7. Pan E., Tirosh O., Madar Z. Triacylglycerol-mediated oxidative stress inhibits nitric oxide production in rat isolated hepatocytes // J. Nutr. 2005. Vol. 135, N 9. P. 2090–2095.
8. Millar J.S., Cromley D.A., McCoy M.G. et al. Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339 // J. Lipid Res. 2005. Vol. 46, N 9, P. 2023–2028.
9. Tenenbaum A., Fisman E.Z. Fibrates are an essential part of modern anti-dyslipidemic arsenal: spotlight on atherogenic dyslipidemia and residual risk reduction // Cardiovasc. Diabetol. 2012. Vol. 11, N 125, P. 1–10.

#### EFFECTS OF LUDARTIN AND GROSSHEMIN ON EXPERIMENTAL HYPERLIPIDEMIA INDUCED BY TRITON WR 1339

A.V. Ratkin<sup>1</sup>, O.A. Kaidash<sup>1</sup>, V.V. Ivanov<sup>1</sup>, V.S. Chuchalin<sup>1</sup>, S.M. Adekenov<sup>2</sup>, A.I. Vengerovskiy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian State Medical University,  
634050, Tomsk, Moskovsky trakt, 2

<sup>2</sup>JSC «International scientific–industrial holding “Phytochemistry”»  
Karaganda, Kazakhstan, M. Gazaliyev str., 4

The hypolipidemic action of sesquiterpene  $\gamma$ -lactones ludartin and grosshemin was studied *in vivo* experiments on the model of acute hyperlipidemia induced by Triton WR 1339. Hyperlipemia model induced by Triton WR 1339, characterized by a sharp increase in the content in the serum of triacylglycerides and total cholesterol, mainly due to the increase of cholesterol in proatherogenic fractions of lipoproteins (low density). Hypolipidemic action of ludartin and grosshemin on the background of triton WR 1339 induced hyperlipemia, and drug comparison of phenofibrate, evident decrease in the content of triacylglycerides and pro-atherogenic cholesterol in low density lipoproteins in the blood serum, as well as reducing the amount of triacylglycerides and cholesterol in the liver of rats.

**Keywords:** ludartin, grosshemin, triton WR 1339, gemfibrozil, sesquiterpene  $\gamma$ -lactones, experimental hyperlipidemia, lipid-lowering effect.

Статья поступила 20 октября 2015 г.