

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСЕНА НА ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИИ

УДК 615.25

© И. В. Окуневич, Л. К. Хныченко, П. Д. Шабанов

ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Ключевые слова:

экспериментальная дислиппротеинемия; алиментарные модели; гипоксен; гемфиброзил; пробукол.

Резюме

В доклиническом исследовании в экспериментах на двух видах животных (крысы и морские свинки) в условиях алиментарной дислиппротеинемии (ДЛП) изучали липидснижающее действие гипоксена в сравнении с гипополипидемическими препаратами гемфибрилом и пробуколом. Создавали алиментарные модели развития ДЛП, заключающиеся в кормлении в течение 30 дней подопытных животных рационом, имеющим избыточное содержание пищевого холестерина, растительных и животных жиров, витамина D2-гиперхолестериновой диетой. Анализировали биохимические показатели липидного обмена в крови и печени, содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови, рассчитывали холестеринный коэффициент атерогенности. Показано, что антигипоксант гипоксен в дозе 50 мг/кг перорально снижает концентрацию ПОЛ в сыворотке крови и проявляет выраженное гипополипидемическое действие на липиды крови и печени у двух видов экспериментальных животных. Липидснижающая активность гипоксена сопоставима с эффектами у гипополипидемических препаратов сравнения гемфибрила и пробукола. На основании результатов проведенного доклинического исследования сделан вывод о перспективности применения гипоксена, как препарата, положительно влияющего на изученные показатели липидного обмена.

Известно, что для улучшения энергетического статуса клетки используются антигипоксанты, способствующие восстановлению функции митохондрий и устраняющие дисбаланс энергетического обмена [1, 3, 5–8, 15]. Одним из эффективных антигипоксантов является гипоксен (олифен)-натриевая соль поли (п-диокси-о-фенилен) тиосерной кислоты, относящийся к классу искусственно созданных редокс-систем. Препарат, синтезированный в середине 1970-х годов, успешно прошел испытания при широком круге заболеваний, в основе которых важную роль играют гипоксические и ишемические расстройства; разрешен к медицинскому использованию при оперативных вмешательствах, заболеваниях лёгких, а также применяется

в клинике в качестве нейро-, ангио-, кардио-, гепато- и гастропротектора [1, 3, 5–8, 11, 13–15]. Механизм антигипоксического действия гипоксена заключается в шунтировании транспорта электронов 1-го и 2-го комплексов дыхательной цепи за счет высокой электрон-обменной емкости, при этом увеличивается скорость потребления кислорода и повышается сопряженность окислительного фосфорилирования. Полигидрофениленовая структура гипоксена обеспечивает проявление выраженных антиоксидантных свойств, способность связывать большое число свободных радикалов, нейтрализовать окислители и продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) [7, 8, 15]. Отмечено, что при коронарном атеросклерозе и ишемической болезни сердца (ИБС) возникает разрыв между потребностями сердца и способностью артерий снабжать участки миокарда достаточным количеством крови, насыщенной кислородом [7, 11]. Клинические исследования показали, что у больных ИБС при включении гипоксена в комплекс терапевтических мероприятий уменьшается вероятность развития необратимых изменений в ишемизированных участках сердечной мышцы, снижается общее потребление кислорода, нормализуется гемодинамика [2, 3, 7, 11, 13]. Поскольку прогрессирование ИБС наряду с активацией процессов ПОЛ сопровождается нарушением обмена липидов и липопротеинов (ЛП), особенно при возникновении дислиппротеинемии (ДЛП) атерогенного характера [9, 10], представляло интерес выяснить потенциальные гипополипидемические свойства гипоксена.

Цель настоящей работы — исследовать влияние гипоксена на изменение показателей липидного обмена в условиях экспериментальной ДЛП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Алиментарную ДЛП моделировали на нелинейных животных-самцах: 210 крысах (230–250 г) и 40 морских свинок (350–450 г), полученных из питомника «Рапполово», которых содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении, со свободным доступом к воде и корму. Использование нескольких видов животных обусловлено их различной чувствительностью к соз-

данию ДЛП и специфичностью липидного спектра крови [9, 12]. Так, у морских свинок холестерин (ХС) сосредоточен в липопротеидах низкой плотности (ЛПНП), а у крыс — в липопротеидах высокой плотности (ЛПВП). Для воспроизведения ДЛП использовали: алкогольную гипертриглицеридемию (ГТГ), тритоновую гиперлипидемию (ГЛП) и алиментарную ДЛП в соответствии с Рекомендациями [8]. Гипоксен (субстанция, «Корпорация Олифен», Россия) вводили перорально через зонд один раз в сутки в дозе 50 мг/кг. В качестве препаратов сравнения использовали известные гиполипидемические средства — гемфиброзил (субстанция, Лопид, США) и пробукол (субстанция, Липомал, Македония) в дозе 50 мг/кг перорально через зонд. Гиполипидемическое действие гемфиброзила обусловлено способностью преимущественно снижать уровень атерогенных липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) и триглицеридов (ТГ), а также увеличивать содержание в крови антиатерогенных ЛП высокой плотности (ЛПВП). Пробукол, помимо снижения синтеза ХС, уменьшает его всасывание и проявляет антиоксидантные свойства [2, 8].

Общий холестерин (ОХС), ТГ, ХС ЛПВП в сыворотке крови крыс и морских свинок определяли на автоматизированной системе («Техникон» АА-II, США). Для оценки атерогенности крови и степени развития ДЛП рассчитывали коэффициент атерогенности (КА): $[ОХС - ХС ЛПВП / ХС ЛПВП]$. Содержание флуоресцирующих продуктов ПОЛ оценивали в сыворотке крови крыс [4]. Уровень ОХС и ТГ в печени животных измеряли в хлороформных и изопропаноловых экстрактах, используя общепринятые специфические цветные реакции, как указано в работе [9].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Statistica 6,0 с применением однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA test) при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С целью первичного выявления гиполипидемической активности применяют скрининговые липидстимулирующие тесты: алкогольную ГТГ и тритоновую ГЛП. Одним из определяющих моментов в развитии алкогольной ГЛП является жировое повреждение печени, а тритоновая модель характеризуется быстрым и значительным увеличением уровня липидов в крови [8].

В опытах, проведенных на модели ГТГ, вызываемой пероральным введением этанола, было выявлено, что у крыс, получавших гипоксен одновременно с этанолом, уменьшался уровень ТГ в сыворотке крови на 65,5%, а печени — на 74,1% по сравнению с контрольными животными, не получавшими лечения. Эксперименты, выполненные в условиях ГЛП, создаваемой однократной инъекцией тритона WR-1339, показали, что через 10 часов после введения детергента концентрация ХС и ТГ в крови увеличивалась в 4,5 и 12 раз соответственно в отличие от таковой у интактных животных, свидетельствующая о развитии значительной гиперлипидемии. У крыс, которые одновременно с детергентом тритоном получали гипоксен, нарушения липидного профиля крови становились менее выраженными: содержание общего ХС снижалось на 47,8%, а ТГ на 54,0% по сравнению с животными с гиперлипидемией. Эти данные указывают на гиполипидемическое свойство тестируемого препарата. Результаты, полученные на скрининговых моделях ДЛП, явились основанием для более подробного изучения гиполипидемической активности гипоксена в условиях алиментарной ДЛП.

Из результатов, представленных в таблице 1, видно, что у крыс, содержащихся на ГХС диете с избыточным содержанием пищевого ХС, смеси жиров,

■ **Таблица 1. Изменение показателей липидного обмена и интенсивность флуоресцирующих продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) на модели алиментарной ДЛП у крыс**

| Показатели | Липиды сыворотки крови (ммоль/л) | | | Коэффициент атерогенности КА | Содержание продуктов ПОЛ (интенсивность флуоресценции) отн. Ед. | Липиды печени (мг/г сырой ткани) | |
|----------------------------|----------------------------------|------------|------------|------------------------------|---|----------------------------------|-----------|
| | Общий ХС | ТГ | ХС ЛПВП | | | Общий ХС | ТГ |
| 1. Интактные крысы | 1,41±0,13 | 0,54±0,03 | 0,61±0,07 | 1,3 | 4,3±0,2 | 2,5±0,43 | 3,6±0,3 |
| 2. ГХС-диета | 5,37±0,40* | 3,58±0,24* | 0,17±0,02* | 30,6 | 19,8±0,7* | 39,3±2,8* | 32,1±4,2* |
| 3. ГХС-диета + гипоксен | 3,90±0,34# | 1,86±0,14# | 0,38±0,04# | 9,3 | 12,1±0,6# | 23,0±1,1# | 22,4±2,1# |
| 4. ГХС диета + пробукол | 3,82±0,29# | 1,91±0,16# | 0,31±0,03# | 11,3 | 13,5±0,4# | 22,3±1,4# | 18,2±3,1# |
| 5. ГХС диета + гемфиброзил | 4,12±0,37# | 1,70±0,11# | 0,40±0,05# | 9,3 | 14,3±0,3# | 24,0±2,3# | 17,5±5,2# |

В каждой группе по 14 животных; * — $p < 0,05$ в сравнении с группой 1; # — $p < 0,05$ в сравнении с группой 2

■ **Таблица 2. Изменение показателей липидного обмена в крови и печени морских свинок на модели алиментарной дислипотеинемии**

| Показатели | Липиды сыворотки крови (ммоль/л) | | | Коэффициент атерогенности КА | Липиды печени (мг/г сырой ткани) | |
|----------------------------|----------------------------------|------------|------------|------------------------------|----------------------------------|-----------|
| | Общий ХС | ТГ | ХС ЛПВП | | Общий ХС | ТГ |
| 1. Интактные | 0,82±0,11 | 0,78±0,04 | 0,25±0,02 | 2,3 | 2,7±0,6 | 5,8±0,4 |
| 2. ГХС диета | 6,24±0,50* | 4,67±0,13* | 0,10±0,05* | 61,4 | 49,6±5,7* | 51,4±8,2* |
| 3. ГХС диета + гипоксен | 3,72±0,34# | 2,54±0,17# | 0,22±0,04# | 15,9 | 33,2±6,4# | 31,7±4,2# |
| 4. ГХС диета + пробукол | 3,98±0,36# | 2,61±0,13# | 0,21±0,02# | 18,0 | 22,3±1,4# | 28,4±6,3# |
| 5. ГХС диета + гемфиброзил | 4,18±0,35# | 2,68±0,11# | 0,23±0,05# | 17,2 | 26,4±7,1# | 27,8±3,8# |

В каждой группе по 8 животных; * — $p < 0,05$ в сравнении с группой 1; # — $p < 0,05$ в сравнении с группой 2

витамина D2 увеличивался уровень ОХС, ТГ в сыворотке крови (в 4,5 и в 6,6 раза) и в печени (в 15 и 9 раз) соответственно. Одновременно снижалась концентрация ХС антиатерогенных ЛПВП (в 3,6 раза) по сравнению с интактными животными. Изменения показателей липидного обмена сопровождались увеличением (в 3 раза) интенсивности флуоресценции продуктов окисления ЛП в крови, позволяющие судить об усилении процессов ПОЛ (группа 2). Иная картина наблюдалась в группе крыс, которым на фоне кормления ГХС диетой вводили гипоксен. Так, в сыворотке крови и печени снижалась концентрация ОХС (на 38,8 и 41,8%), ТГ (на 48,0 и 30,2%) соответственно, а содержание ХС антиатерогенных ЛПВП увеличивалось в 2 раза по сравнению с гиперлипидемическими крысами. Подтверждением значительного улучшения липидного профиля крови вследствие коррекции его гипоксеном является снижение в 3 раза коэффициента атерогенности КА в той же степени, что и под влиянием пробукола и гемфиброзила — 11,3 и 9,3, соответственно против 30,6 — у животных с ДЛП (таблица 1, группы 3, 4, и 5). Помимо улучшения липидного спектра крови уменьшалась и величина интенсивности флуоресцирующих продуктов ПОЛ (на 38,9%), характеризующая антиоксидантное действие исследуемого препарата (таблица 1, группа 3). Сравнительная оценка терапевтического эффекта тестируемого антигипоксанта и эталонных препаратов гемфиброзила и пробукола на изменение липидных показателей в сыворотке крови и печени на модели хронической алиментарной ДЛП у крыс не выявила между ними существенных различий (группы 4 и 5), что указывает на наличие выраженного гиполипидемического свойства у гипоксена.

Хроническая алиментарная ДЛП на морских свинках также характеризуется значительным увеличением содержания липидов в крови и печени (таблица 2, группа 2). Так, уровень ХС и ТГ в сыворотке крови увеличивается в 7,6 и 6 раз соответственно, концентрация ХС ЛПВП снижается в 2,5 раза. Величина холестерина коэффициента атерогенно-

сти (КА) возрастает более чем в 26,6 раз по сравнению с его значениями у интактных животных. В печени вследствие нарушения жирового обмена развивается выраженный липидоз. При терапии морских свинок гипоксеном (группа 3) в сыворотке крови достоверно снижается уровень ОХС (на 40%), ТГ (на 45,6%) и повышается сниженная в условиях ДЛП концентрация ХС антиатерогенных ЛПВП (в 2,2 раза), что свидетельствует о гиполипидемическом действии тестируемого препарата. В результате снижения уровня ОХС и повышения ХС ЛПВП уменьшается (в 3,9 раза) расчетная величина холестерина коэффициента атерогенности КА, отражающего степень развития гиперлипидемии. Кроме того, снижается инфильтрация печени липидами: содержание ОХС и ТГ уменьшается в 1,5 и 1,6 раза соответственно (группа 3) по сравнению с группой гиперлипидемических морских свинок (группа 2). Следует отметить, что у животных, получавших одновременно с ГХС диетой гипоксен, не наблюдалось статистически значимых различий в содержании ОХС, ТГ, ХС ЛПВП в крови, ОХС и ТГ в печени по сравнению с группой животных, получавших гиполипидемические препараты — гемфиброзил и пробукол.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты, полученные в модели хронической алиментарной ДЛП у крыс и морских свинок, свидетельствуют, что пероральное введение гипоксена (50 мг/кг) оказывает выраженное гиполипидемическое действие, проявляющееся в угнетении степени развития ДЛП, снижении инфильтрации печени липидами, близкое липидснижающим свойствам препаратов сравнения — гемфиброзила и пробукола.

Обнаруженное нами в доклиническом экспериментальном исследовании гиполипидемическое действие гипоксена, сопоставимое по силе эффекта с липидснижающими препаратами гемфиброзилом и пробуколом, может иметь значение в комплекс-

ной терапии пациентов с сердечно-сосудистыми и атеросклероз-ассоциированными заболеваниями для устранения дислипотеинемии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова А. Е. Антигипоксическая активность и механизм действия некоторых синтетических и природных соединений // Эксперим. и клин. фармакол. — 2005. — Т. 68, № 5. — С. 72–78.
2. Андрианов В. П., Бойцов С. А., Смирнов А. В. и др. Применение антигипоксантов амтизола и олифена для лечения больных с хронической недостаточностью кровообращения IIБ стадии // Тер. архив. — 1996. — № 5. — С. 74–78.
3. Антигипоксанты и актопротекторы // Матер. Рос. научн. конф. — СПб., 1994. — Вып. I–IV.
4. Богданов В. Л., Викторова Е. Н., Веселова Т. З. и др. Флуоресцентная регистрация продуктов перекисидации в плазме крови и липопротеидах низкой плотности // Опич. журн. — 1995. — № 11. — С. 89–90.
5. Ганапольский В. П., Шабанов П. Д. Метеоадаптогенные свойства антигипоксантов // Эксперим. и клин. фармакол. — 2009. — № 6. — С. 36–41.
6. Зарубина И. В. Современные представления о патогенезе гипоксии и её фармакологической коррекции // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2011. — Т. 9, № 3. — С. 31–48.
7. Левченкова О. С., Новиков В. Е., Пожилова Е. В. Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2012. — Т. 10, № 3. — С. 3–12.
8. Медведев Ю. В., Толстой А. Д. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма. — М., 2000. — 232 с.
9. Окуневич И. В., Рыженков В. Е. Антиатеросклеротическое действие милдроната в эксперименте // Пат. физиол. и эксперим. терапия. — 2002. — № 2. — С. 24–27.
10. Окуневич И. В., Сапронов Н. С. Антиоксиданты: эффективность природных и синтетических соединений в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2004. — № 3. — С. 2–17.
11. Перепеч Н. Б., Михайлова И. Е., Недошивин А. О. и др. Олифен в терапии ИБС — первые результаты и перспективы клинического применения // Междунар. мед. обзоры. — 1993. — Т. 1, № 4. — С. 328–333.

12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. — М., 2005. — С. 452–461.
13. Семиголовский Н. Ю., Оболенский С. В., Рыбкин М. П. и др. Сравнительная оценка эффективности 10 антигипоксических средств в остром периоде инфаркта миокарда // Междунар. мед. обзоры. — 1993. — Т. 2, № 5. — С. 334–338.
14. Смирнов В. С., Кузьмич М. К. Применение гипоксена в различных видах спорта как метаболического корректора гипоксических состояний для повышения работоспособности и восстановления организма. — М.; СПб., 2002. — 14 с.
15. Шабанов П. Д., Зарубина И. В., Новиков В. Е., Цыган В. Н. Метаболические корректоры гипоксии. — СПб: Информ-Навигатор, 2010. — 912 с.

INFLUENCE OF HYPOXEN ON THE DATA CHANGING OF LIPID METABOLISM IN THE EXPERIMENTAL DISLIPIDOPROTEINEMIA

I. V. Okunevich, L. K. Khnychenko, P. D. Shabanov

◆ **Summary:** The hypolipidemic efficiency of antihypoxant hypoxen in the experimental conditions of alimentary dislipoproteinemia (DLP) in rats and guinea pigs in comparison with lipid-lowering drugs gemfibrozyl and probucol in doclinic investigation was studied. The alimentary models of DLP were created by feeding of rats and guinea pigs of hypercholesterol diet (rich content of food cholesterol, the plant and animal lipids, vitamin D2) during 30 days. The concentration of lipid oxidative products in serum and indicators of lipid metabolism (content of TCh, TG, HDL-Ch) in blood and liver were analysed. The calculation of cholesterol index of atherogenicity was used. It was shown that hypoxen in dose 50 mg/kg per os had been decreased the concentration of lipid oxidative products in serum and revealed the pronounced lipid-lowering effect in blood and liver of animals. The hypolipidemic efficiency of hypoxen was in the proximity of gemfibrozyl and probucol. The experimental results have been shown the possibility of practising using of this active antihypoxant. Hypoxen seemingly to be useful as a hypolipidemic drug in the complex therapy of cardiovascular and atherosclerosis associated diseases.

◆ **Key words:** experimental dislipoproteinemia; alimentary models; hypoxen; gemfibrozyl; probucol.

◆ Информация об авторах

Окуневич Ирина Викторовна — к. б. н., старший научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. акад. С. В. Аничкова. ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН. 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12. E-mail: irina_okunevich@mail.ru.

Хныченко Людмила Константиновна — д. б. н., ведущий научный сотрудник отдела нейрофармакологии им. акад. С. В. Аничкова. ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН. 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12. E-mail: ludmila.konst83@mail.ru.

Шабанов Петр Дмитриевич — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии. Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. Санкт-Петербург, 194044, ул. Акад. Лебедева, 6; заведующий отделом нейрофармакологии им. С. В. Аничкова. ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН. 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

Okunevich Irina Viktorovna — PhD (Pharmacology), Senior Researcher, Anichkov Department of NeuroPharmacology. Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia. E-mail: irina_okunevich@mail.ru.

Khnychenko Lyudmila Konstantinovna — PhD, Dr. Biol. Sci. (Pharmacology), Leading Researcher, Anichkov Department of NeuroPharmacology. Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia. E-mail: ludmila.konst83@mail.ru.

Shabanov Petr Dmitriyevich — Dr. Med. Sci. (Pharmacology), Professor and Head, Dept. of Pharmacology, S. M. Kirov Military Medical Academy, 6, Acad. Lebedev St., St. Petersburg, 194044; Anichkov Dept. of NeuroPharmacology, Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS. 197376, St. Petersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru