

Г.Г.Воронов, А.А.Чиркин,
Н.Ю.Коневалова, Д.С. Янушевский

ВЫЯВЛЕНИЕ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОГО И АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ФЛАВОНОИДНОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ЦВЕТКОВ ЛЮПИНА НА МОДЕЛИ РАДИАЦИОННОЙ ТРАНЗИТОРНОЙ ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИИ

Витебский государственный
медицинский институт

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной проблемой современной радиобиологии и медицины является поиск способов фармакологической коррекции радиационных дислипопротеинемий, реальность которых зарегистрирована в многочисленных экспериментальных и клинических наблюдениях (Е.Ф. Конопля, А.А. Чиркин и соавт. (Минск, Витебск), П.П. Чаяло и соавт. (Киев). В этом отношении существенный интерес представляют флавоноидные гликозиды, для которых описана возможность гипохолестеринемического и антиоксидантного действия флавоноидных препаратов из цветков люпина на модели транзиторной радиационной дислипопротеинемии, принятой в Институте радиобиологии АН республики Беларусь и кафедре биохимии Витебского ордена Дружбы народов медицинского института в качестве экспериментальной модели.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Испытуемый препарат представляет собой сумму флавоноидных гликозидов (кверцетин, лютеолин, апигенин), полученных из цветков люпина. Препарат вводился крысам-самцам, массой 160 г зондом в желудок в виде взвеси в 1% растворе желатины в количестве 1-2 мл (дозы 10 мг/кг, 35 мг/кг и 65 мг/кг) один раз в сутки в течение 7 дней в периоде развития радиационной транзиторной дислипопротеинемии (10-17 сутки после облучения). Однократное облучение крыс производили на гамма-установке УГУ-420 (СССР) с мощностью дозы $2,7 \cdot 10^{-4}$ Гр/с и фокусном расстоянии

3 метра в дозе 1,0 Гр (Грэй). Всего было 5 групп животных (по 10 крыс в каждой группе): интактные крысы, облученные в дозе 1,0 Гр, и три группы облученных крыс, которым вводили препарат в дозах 10, 35 и 65 мг/кг массы тела. Через 24 ч после седьмого введения препарата животных забивали декапитацией и в сыворотке крови, полученной из сосудов шеи, определяли основные показатели липидтранспортной системы: общие липиды (г/л), триглицериды (ммоль/л) с помощью наборов фирмы «Лаксма», содержание общего холестерина (ммоль/л) по Абелю, а также холестерин ЛПВП, ЛПОНП, ЛПНП (все в ммоль/л) по методам, рекомендованным НИИ профилактической медицины АМН СССР [5]. Индекс атерогенности рассчитывали по А.Н. Климову: (общий холестерин-холестерин ЛПВП): холестерин ЛПВП. Содержание белков в основных классах липопротеинов оценивали спектрофотометрически, а содержание липидов с помощью наборов фирмы «Лаксма» [2]. Оба показателя выражали в г/л. Содержание диеновых конъюгатов (мкмоль/мг липидов), ТБК-позитивных веществ или малонового диальдегида (мкмоль/л, мкмоль/мг) определяли по прописям В.Б. Гаврилова и соавт.[3] и Л.И. Андреевой и соавт.[1]. Антиокислительную активность крови (%) оценивали по степени накопления малонового диальдегида в желточных липопротеинах [4]. Статистическая обработка результатов производилась после анализа вариационных рядов на нормальность распределения с использованием критерия Стьюдента на персональном компьютере ИБМ (Статграф). В таблицах приводятся величины: среднее значение $\pm$ сигма.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После внешнего гамма-облучения крыс в дозе 1,0 Гр развивается дислиппротеинемия атерогенного типа, которая спустя 17 суток после облучения характеризуется повышенным содержанием общего холестерина, триглицеридов и общих липидов сыворотки крови, холестерина ЛПОНП и ЛПНП, липидов в основных классах липопротеинов (см. таблицу). При этом содержание холестерина ЛПВП, количество белков ЛПВП и коэффициент белки/липиды ЛПВП достоверно снижены. Изменения липидтранспортной системы зарегистрированы на фоне активации процессов перекисного окисления липидов сыворотки крови (повышение уровня ранних продуктов - диеновых конъюгатов и поздних продуктов - малонового диальдегида) на фоне сниженного антиокислительного потенциала сыворотки крови. Эти изменения развиваются, начиная с 10 суток после облучения животных. Поэтому период 10-17 суток, обозначенный как период развития транзитной радиационной дислиппротеинемии, является удобным для испытания гиподипидемической и антиоксидантной активности фармакологических препаратов.

Флавоноидный препарат из цветков люпина (ФПЦЛ) был применен в этом периоде транзитной радиационной дислиппротеинемии в трех дозах на протяжении 7 суток. Установлено, что ФПЦЛ обладает ярко выраженным гипохолестеринемическим действием. Такое действие препарата находится в прямой зависимости от его дозы. Следует отметить, что при всех испытанных дозах ФПЦЛ на фоне облучения приводит к уменьшению содержания холестерина ниже значений, характерных для интактных крыс.

Препарат ФПЦЛ усугублял действие гамма-излучения на содержание холестерина ЛПВП. Это неблагоприятный признак, поскольку индекс атерогенности под влиянием препарата существенно не изменился и остался на уровне значений, зарегистрированных у облученных крыс.

Средняя и высокая (35 и 65 мг/кг) дозы препарата снизили содержание триглицеридов и ЛПОНП в сыворотке крови. По всей видимости, в этих дозах препарат по-

давлял его мобилизацию из жировых депо. Параллельно с этим препарат оказал дозозависимое нормализующее действие на уровень холестерина ЛПНП. Этот эффект может быть связан с активацией процесса липолитической трансформации ЛПОНП в сыворотке крови, а также с восстановлением механизмов рецепторно-опосредованного захвата ЛПНП гепатоцитами.

Выявлена определенная селективность в действии различных доз препарата на белково-липидный состав ЛПВП сыворотки крови облученных крыс. По сравнению с группой облученных крыс ФПЦЛ не вызвал каких-либо существенных изменений в составе ЛПВП. Увеличение дозы препарата до 35 мг/кг привело к уменьшению липидного компонента. И что весьма существенно, препарат в дозу 65 мг/кг достоверно повысил содержание белкового компонента в составе ЛПВП. По всей видимости, в условиях сниженного уровня ЛПВП, увеличение белкового компонента в них, может способствовать улучшению их субстратных свойств в лецитин-холестеринацилтрансферазной реакции, а также антиатерогенных свойств в механизмах обратного транспорта холестерина.

В действии препарата на белково-липидный состав апо-В-содержащих липопротеинов выявлена дозозависимая селективность. При дозе 10 мг/кг апо-В-липопротеины относительно перегружены липидами, что приводит к резкому уменьшению коэффициента белки/липиды апо-В-липопротеинов. Повышение дозы до 35 мг/кг вызывает уменьшение доли липидов в апо-В-липопротеинах, приближая их состав, к составу этих липопротеинов у интактных крыс. При дальнейшем увеличении дозы препарата (65 мг/кг) наблюдается

Таблица 1. Влияние флавоноидов из цветков люпина на показатели липидтранспортной системы и перекисного окисления липидов сыворотки крови облученных крыс ($\bar{X} \pm \sigma$)

Показатель	Интактные крысы	Облучение, 1 Гр	Флавоноидный препарат из цветков люпина		
			10 мг/кг	35 мг/кг	65 мг/кг
Общий холестерин	2.04 ± 0.237	2.35 ± 0.188 ¹	1.83 ± 0.133 ^{1,2}	1.60 ± 0.407 ^{1,2}	1.44 ± 0.180 ^{1,2}
Холестерин ЛПВП	1.40 ± 0.141	0.87 ± 0.080 ¹	0.64 ± 0.159 ^{1,2}	0.72 ± 0.111 ^{1,2}	0.54 ± 0.209 ^{1,2}
Холестерин ЛПОНП	0.52 ± 0.041	0.63 ± 0.076 ¹	0.61 ± 0.070 ¹	0.43 ± 0.037 ^{1,2}	0.46 ± 0.051 ^{1,2}
Холестерин ЛПНП	0.19 ± 0.036	0.84 ± 0.083 ¹	0.56 ± 0.146 ^{1,2}	0.57 ± 0.126 ^{1,2}	0.39 ± 0.216 ^{1,2}
Белки ЛПВП	118.8 ± 23.5	71.6 ± 33.4 ¹	54.4 ± 26.0 ¹	68.1 ± 14.6 ¹	149.8 ± 26.9 ^{1,2}
Липиды ЛПВП	3.89 ± 0.30	4.56 ± 0.293 ¹	4.69 ± 0.408 ¹	3.49 ± 0.322 ^{1,2}	4.23 ± 0.479 ¹
Белки / липиды ЛПВП	29.9 ± 5.26	15.9 ± 7.64 ¹	11.7 ± 5.81 ¹	19.9 ± 5.32 ¹	35.8 ± 7.77 ²
Белки апо-В-ЛП	3.28 ± 0.360	4.12 ± 0.845 ¹	3.06 ± 0.731 ²	2.89 ± 0.733 ²	3.57 ± 1.464
Липиды апо-В-ЛП	1.64 ± 0.541	3.10 ± 0.727 ¹	3.90 ± 1.453 ¹	1.83 ± 0.613 ²	1.49 ± 0.752 ²
Белки/липиды апо-В-ЛП	2.03 ± 0.734	1.58 ± 0.797	0.86 ± 0.288 ^{1,2}	1.64 ± 0.441	2.65 ± 1.134 ²
Индекс атерогенности	0.45 ± 0.126	1.68 ± 0.362 ¹	1.99 ± 0.650 ¹	1.43 ± 0.359 ¹	1.92 ± 1.039 ¹
Триглицериды	1.13 ± 0.087	1.37 ± 0.164 ¹	1.32 ± 0.156 ¹	0.94 ± 0.079 ^{1,2}	0.99 ± 0.112 ^{1,2}
Общие липиды	2.42 ± 0.166	3.08 ± 0.095 ¹	1.99 ± 0.074 ^{1,2}	2.06 ± 0.090 ^{1,2}	1.89 ± 0.066 ^{1,2}
Диеновые конъюгаты	2.84 ± 0.475	7.40 ± 0.942 ¹	6.08 ± 1.284 ^{1,2}	1.61 ± 1.059 ^{1,2}	1.27 ± 0.523 ^{1,2}
МДА, мкмоль/л	8.43 ± 0.842	25.5 ± 4.31 ¹	13.5 ± 1.95 ^{1,2}	12.1 ± 2.33 ^{1,2}	7.9 ± 1.15 ²
МДА, мкмоль/г	3.50 ± 0.332	8.06 ± 1.411 ¹	6.72 ± 0.907 ^{1,2}	5.89 ± 1.405 ^{1,2}	4.08 ± 0.586 ^{1,2}
АОА, %	62.6 ± 4.51	165.8 ± 20.51 ¹	108.1 ± 24.76 ^{1,2}	83.5 ± 20.82 ^{1,2}	68.5 ± 15.85 ²

Примечание: 1- статистически достоверное отличие в сравнении с интактной группой

2-статистически достоверное отличие в сравнении с группой облученных крыс, не получавших препарат

относительное преобладание белкового компонента над липидными по отношению к облученным крысам. При этом белково-липидный состав апо-В-липопротеинов полностью нормализуется. Гиполипидемическое действие препарата иллюстрируется также данными по его влиянию на уровень общих липидов сыворотки крови.

Препарат оказал антиоксидантное действие во всем изученном диапазоне доз на фоне активированного перекисного окисления липидов сыворотки крови у облученных крыс. Ранние продукты ПОЛ: при дозе 10 мг/кг отмечено слабовыраженное нормализующее действие; более высокие дозы препарата подавляют образование диеновых конъюгатов до уровня более низкого, чем у интактных крыс. Поздние продукты ПОЛ (малоновый диальдегид): выявлено антиоксидантное действие препарата, возрастающее при увеличении его дозы. ФПЦЛ уменьшал образование

малонового диальдегида в желточных липопротеинах в присутствии сыворотки крови облученных крыс. Следовательно, препарат восстанавливает антиоксидательный потенциал сыворотки крови, полностью нормализуя его при дозе 65 мг/кг.

ВЫВОДЫ

1. Препарат ФПЦЛ обладает выраженным гиполипидемическим и гипохолестеринемическим действием при радиационной дислипидопротеинемии.

2. Препарат ФПЦЛ обладает выраженным антиоксидантным действием при радиационной дислипидопротеинемии.

3. Препарат ФПЦЛ не оказывает благоприятного действия на содержание холестерина ЛПВП, а при дозе 65 мг/кг приводит к дальнейшему уменьшению содержания этого класса липопротеинов, однако при этом ЛПВП по состоянию белково-липидного соотношения не отличаются от интактных крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. - 1988. - № 11. С. 41-43.
2. Антонов М.П., Тофило А.П., Богданова К.Н. Метод определения количества и состава пре-бета и бета-липопротеидов в сыворотке крови // Депонир. рукопись, М., 1986, Деп.

11345 ВИНИТИ.

3. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов // Лаб. дело - 1988. - № 2. - С. 60-64.
4. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови // Лаб. дело - 1988. - № 5. - С. 59-62
5. Перова Н.В. Современные методы исследования липопротеидов высокой плотности (методические рекомендации), М.: «Медицина», 1983, С. 3-7, 21-23.