

УДК 631.481

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ АМАРАНТОВОГО И ЛЬНЯНОГО МАСЕЛ НА ДИНАМИКУ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА КРЫС В УСЛОВИЯХ ХОЛЕСТЕРИНОВОЙ НАГРУЗКИ

И.М. Коренская, В.Ю. Сулин, Е.Ф. Сафонова, А.Н. Постыка

Воронежский государственный университет

ВВЕДЕНИЕ

Применяемые в настоящее время антиатеросклеротические средства обладают способностью снижать уровень липидов и липопротеидов в крови на 17-40%. Однако опыт их практического применения показывает, что широко применяемые антиатеросклеротические препараты не лишены способности вызывать серьезные осложнения и даже самые современные и высокоэффективные препараты из группы статинов обладают побочными эффектами [1, 2, 3].

В этой связи вполне определенный интерес представляют препараты природного происхождения, отличающиеся безвредностью, возможностью их длительного применения без осложнений. Од-

нако эти препараты практически не применяются официальной медициной из-за отсутствия объективных данных об эффективности их терапевтического действия.

Одним из известных антиатеросклеротических природных средств является льняное масло. В ряде исследований установлено, что подобным эффектом может обладать и амарантовое масло, полученное из семян амаранта (*Amaranthus* spp. L.).

По своему биохимическому составу амарантовое и льняное масла очень близки, что позволяет предположить наличие гипохолестеринемического действия амарантового масла и возможность его применения как антиатеросклеротического средства (таблица 1).

Таблица 1.

Сравнительный биохимический состав подсолнечного, льняного и амарантового масел

химические соединения	подсолнечное	льняное	амарантовое
Токоферол	≈ 0,2 %	≈ 1,2 %	≈ 2 %
Фосфолипиды	≈ 0,8 %	≈ 5 %	≈ 10 %
Триглицериды:			≈ 72 %
Пальметиновая кислота (16:0)	≈ 6 %	≈ 11 %	≈ 21 %
Пальмитолеиновая кислота (16:1)			≈ 0,2 %
Стеариновая кислота (18:0)	≈ 4 %	≈ 9 %	≈ 2 %
Олеиновая кислота (18:1)	≈ 21 %	≈ 10 %	≈ 19 %
Линолевая кислота (18:2)	≈ 70 %	≈ 15 %	≈ 51 %
Линоленовая кислота (18:3)	-	≈ 45 %	≈ 1 %
Арахидиновая кислота (20:0)	≈ 0,7%	≈ 0,5%	≈ 0,5%
Сквален			≈ 8 %
Токоферол			≈ 2 %

Исходя из этого, целью дипломной работы было сравнительное изучение фармакологических свойств жирных масел из семян амаранта и льна.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- изучение общетоксического действия вводимых амарантового и льняного масел путем патоморфологического исследования внутренних органов животных участвовавших в эксперименте;
- биохимический анализ показателей крови животных, принимавших растворы холестерина в амарантовом и льняном маслах;
- изучение гипохолестеринемического действия амарантового и льняного масел;
- изучение содержания оксида азота и его метаболитов в сыворотке крови экспериментальных животных;
- изучение гипоосмотической резистентности эритроцитов крови экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на белых нелинейных крысах-самцах с массой 180-220 грамм. Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к корму и воде.

В экспериментах использовали 100% амарантовое, льняное и подсолнечное масла. Амарантовое масло, было получено по оригинальной технологии, разработанной на кафедре биохимия и физиология растений Воронежского госуниверситета путем избирательной экстракции амарантового масла неполярными и полярными растворителями (гексаном и этиловым спиртом) [4]. Льняное масло, полученное “холодным” способом – прессованием семян льна при температуре 40-45° С (Фирма “Эколён”). Подсолнечное масло использовали торговой марки «Слобода».

Для формирования относительно однородных групп экспериментальных животных изучали поведенческие реакции нелинейных крыс в тесте «открытое поле» [5]. По итогам тестирования отобрали 4 группы крыс (по 6 особей в каждой): первая – интактная, вторая – контрольная («подсолнечная»), третья – «амарантовая», четвертая – «льняная».

Животным контрольной и опытных групп в течение 21 дня, ежедневно в утренние часы до основного кормления с помощью зонда в желудок вводили холестерин (Фирма ДИА-М, Испания), растворенный в соответствующем масле, в дозе 50 мг/кг массы животного. Однократный объем вводимых

растворов масел в среднем составлял 5.0 мл/кг массы крысы.

После окончания эксперимента у животных проводили внутрисердечный забор крови и морфологическое исследование внутренних органов: сердца, желудка, печени, почек, надпочечников, поджелудочной железы.

В сыворотке крови определяли содержание общего белка (г/л, рефрактометрическим методом), белковые фракции (%), методом электрофоретического разделения в агарозном геле), концентрацию общих липидов (г/л) и мочевины (мм/л) фотометрическими методами. Концентрацию общего холестерина (мм/л), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) определяли фотометрическим методом с помощью набора реактивов «Vital diagnostics» (Санкт-Петербург). Определение щелочной фосфатазы (ЩФ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ) проводили спектрофотометрическими методами с использованием наборов реактивов фирмы «Vital diagnostic» (г. Санкт-Петербург). Активность ферментов рассчитывали в мм субстрата/л.ч. Определение указанных показателей проводили с использованием унифицированных лабораторных методов исследования крови [6].

Дополнительно проводили расчет коэффициента Де Ритиса по формуле

$$\text{коэффициент Де Ритиса} = \frac{\text{АлАТ}}{\text{АсАТ}}$$

Коэффициент атерогенности (K_{XC}) рассчитывали по А.Н Климову [7]:

$$K_{XC} = \frac{\text{Общ. ХС} - \text{ЛПВП}}{\text{ЛПНП}}$$

Данный коэффициент отражает отношение атерогенных липопротеинов к содержанию антиатерогенных липопротеинов в сыворотке крови.

Достоверность полученных групповых различий регистрируемых показателей определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета «STADIA» [8].

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании сравнительного анализа средних значений регистрируемых поведенческих параметров в тесте «открытое поле» до и после введения масел не установлено существенных изменений формы и динамики ориентировочно-исследовательских реакций крыс.

Влияние исследуемых жирных масел и холестерина на некоторые биохимические показатели сыворотки крови животных

Показатели крови	1 группа Интактные животные	2 группа Контрольная	3 группа “Амарантовая”	4 группа “Льняная”
Белок (г/л)	72,0±1,90	81,8±21,76* ¹	86,77±3,07* ¹	85,90±1,74* ¹
Липиды (г/л)	2,15±0,12	3,83±0,04* ¹	3,38±0,12* ¹	3,56±0,10* ¹
Мочевина (мм/л)	6,04±0,40	8,45±0,11* ¹	7,68±0,21*	7,44±0,33*
Ф _н (мм/л)	1,3±0,21	1,46±0,04	2,71±0,15* ^{1,2}	2,97±0,06* ^{1,2}
ЩФ (мм/(л*час))	4,77±0,16	2,90±0,17* ^{1,3}	3,68±0,09* ^{1,2}	1,95±0,15* ^{1,3}
АсАТ (мм/(л*час))	1,65±0,013	0,97±0,06* ^{1,3,4}	1,35±0,06* ^{1,2}	1,43±0,01* ^{1,2}
АлАТ (мм/(л*час))	1,06±0,04	0,43±0,03* ^{1,3,4}	0,91±0,08* ^{1,2}	0,97±0,04* ^{1,2}
Коэффициент Де Ритиса	1,56±0,12	2,26±0,18	1,48±0,08	1,47±0,06

Примечание: * – p<0,05

Это позволило сделать предположения об относительно однородном подборе животных и отсутствии выраженного влияния на общее состояние и поведенческие реакции животных исследуемых масел, а также процедуры внутрижелудочного введения.

При патоморфологическом исследовании не установлено статистически значимых изменений массы отдельных внутренних органов животных относительно интактных. Рассчитанные средние массы внутренних органов экспериментальных животных входят в диапазон нормальных колебаний веса исследуемых органов.

При анализе биохимических показателей крови установлено, что в опытных группах животных концентрация общего белка, и общих липидов в сыворотке крови по окончании кормления растворами масел достоверно выше по сравнению с интактными крысами, однако не превышает верхних границ нормы (таблица 2).

Как известно, транспорт жирных кислот осуществляется в составе белково-липидных комплексов [9, 10]. Таким образом, повышение содержания общего белка и мочевины в сыворотке крови крыс, получавших масляные растворы холестерина, косвенно свидетельствуют об интенсификации белкового и жирового обменов.

Поскольку кормление опытных животных растворами растительных масел и холестерина может вызывать интенсификацию процессов липидного обмена в печени, были проанализированы показатели активности индикаторных ферментов печени – ЩФ, АсАТ, АлАТ.

Установлено, что, несмотря на дополнительную липидную и холестериновую нагрузки, в сыворотке крови животных опытных групп не выявлено повышение активности индикаторных ферментов, а расчетный коэффициент Де Ритиса находится в пределах нормы (1.73-2.18) [11]. Это свидетельствует об отсутствии явлений цитолиза гепатоцитов и холестаза при применении исследуемых масел (таблица 2). Полученные данные согласуются с результатами исследований, в которых показано отсутствие гепатотоксического действия чистых растворов амарантового масла в условиях его пролонгирования внутрижелудочного введения в дозах 0.5 мл/кг и 5.0 мл/кг массы крыс [12].

Уровень общего холестерина в контрольной группе был почти в 4 раза выше, в сравнении с интактными крысами и животными, получавшими растворы холестерина в амарантовом и льняном маслах (таблица 3).

В сыворотке крови животных опытных групп отмечено достоверное повышение содержания ЛПВП по сравнению с интактными животными: в

Влияние исследуемых масляных растворов холестерина на основные показатели липидного обмена животных

Показатели	1 группа Интактные животные	2 группа Контрольная	3 группа “Амарантовая”	4 группа “Льняная”
Холестерин (мм/л)	1,53±0,04	5,92±0,88*	1,39±0,07	1,32±0,05*
Триглицериды(м М/л)	0,61±0,03	0,27±0,01*	0,79±0,04*	0,41±0,06*
ЛПВП (мм/л)	0,44±0,0160	1,09±0,05*	0,87±0,02*	0,84±0,07*
ЛПНП (мм/л)	0,83±0,052	4,71±0,85*	0,45±0,05*	0,29±0,06*
Коэффициент атерогенности	2,47±0,22	4,45±0,68	0,93±0,04*	0,56±0,03*

Примечание: * – p<0,05

контрольной группе – в 2,5 раза, а в «амарантовой» и «льняной» группах на 97 % и 91 %, соответственно.

Уровень ЛПНП в контрольной группе увеличился более чем в 5,5 раз, в то время как введение амарантового и льняного масла вызвало снижение ЛПНП на 46 % и 66 % соответственно по сравнению с интактной группой.

Таким образом, коэффициент атерогенности при введении раствора холестерина в амарантовом масле снижался более чем в 2,5 раза, а в льняном масле – почти в 4,5 раза. Полученные данные подтверждают гипохолестеринемический эффект амарантового масла в условиях холестериновой нагрузки, однако степень его выраженности меньше, чем у льняного масла.

Опираясь на литературные данные по метаболизму холестерина [9, 10, 13, 14], полученные результаты можно объяснить следующим образом.

Известно, что поступившие с пищей холестерин и липидный комплекс растительных масел в энтероцитах преобразуются в первичные хиломикроны (ХМ). В крови первичные ХМ ассоциируются с апо-Е белково-липидным комплексом (БЛК) и формируют зрелые ХМ, содержащие эфиры холестерина (ЭХ). ХМ путем апо Е/В-48 рецепторного эндоцитоза поступают в печень, где происходит реэтерификация холестерина. Наличие в крови крыс фермента ЛХАТ и Апо-А-1 обуславливает формирование ЛПВП-3.

В лизосомах гидролиз ЭХ освобождает полиеновые жирные кислоты, которые использует клетка. Транспортные белки цитозоля переносят холе-

стерин на мембрану, с которой он диффундирует в кровь. В крови холестерин связывает апоА-IV и в ЛПВП опять его используют для этерификации следующей полиеновой ЖК. Следовательно, полиеновые ω-3 жирные кислоты, входящие в состав ЛПВП в форме ЭХ, обеспечивают необходимый активный транспорт этих незаменимых ЖК в клетки, связывая таким образом холестерин и препятствуя его превращению в ЛПНП.

В работах В.Н. Титова [15] высказано предположение, что уровень определяемого в крови холестерина на самом деле отражает уровень этерифицированного холестерина (ЭХ), который клетки при дефиците полиеновых ЖК не могут поглотить.

В этом случае, полученные нами результаты о возможном антиатерогенном действии амарантового и льняного масла можно объяснить высоким содержанием в них полиеновых жирных кислот, прежде всего омега-3 ЖК.

Таким образом, на основании полученных результатов и их анализа можно сделать следующие выводы:

1. Амарантовое и льняное масла не оказывают общетоксического действия и органо-тропного эффекта и не вызывают изменения общего состояния и поведенческих реакций животных.
2. Применение раствора холестерина в подсолнечном масле приводит к повышению уровня общего холестерина в сыворотке крови в 3,8 раз, а липидно-холестериновая нагрузка на базе амарантового и льняного масел – к снижению, в среднем, на 14%.

3. Увеличение концентрации липидов высокой плотности в сыворотке крови и снижение индекса атерогенности в условиях липидно-холестериновой нагрузки позволяет предположить наличие антиатерогенного эффекта льняного и амарантового масел.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Крылов А.А. Атеросклероз и хроническая персистентная вирусная инфекция / А.А. Крылов, Р.А. Купчинский // Врачеб. дело. – 1990. – № 11. – С. 43-46.

2. Шарыкина Н.И. Фармакологический анализ фармакотерапии гиперлипидемии / Н.И. Шарыкина и др. // Фармакологический вестник. – 1997. – № 2. – С. 14-17.

3. Гапон Л.П. Роль витамина Р в атеросклерозе / Л.П. Гапон // Врачеб. дело. – 1982. – № 2. – С. 6-11.

4. Макеев А.М. Способ получения масла из семян амаранта // А.М.Макеев, И.С. Суровцев, М.М.Левачев и др. // Патент №2080360, приоритет от 22.12.1994.

5. Горенко А.Н. Использование теста “открытого поля” для оценки памяти и эмоционального статуса у крыс в постреанимационном периоде / А.Н. Горенко // Эксперим. и клин. патфизиол. экстремал. и терминал. состояний. – Новокузнецк, 1990. – С.36-38.

6. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник: под ред. Проф. Меньшикова В.В. – М.: Медицина. – 1987. – 364 с.

7. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. 2-изд., стереотипное. – М.: Медицина, 2002. – 544с.

8. Тюрин Ю.Н. Анализ данных на компьютере / Ю.Н. Тюрин, А.А. Макарова. Под ред. В.Э. Фигурнова. – М.: Наука, 1995. – 384 с.

9. Климов А.Н. Липипротеиды, дислипидопротемия и атеросклероз / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева. – М.: Медицина, 1984. – 166 с.

10. Климов А.И. Атеросклероз. Превентивная кардиология: руководство / Под ред. Г.И. Косицкого. – М.: Медицина, 1987. – С. 239-316.

11. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблема нормы в токсикологии. – М.: Медицина, 1991. – 204 с.

12. Салей А.П. Влияние различных доз амарантового масла на активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс / А.П.Салей, И.М.Коренская, З.Д.Мухаммед // Физиология и психофизиология мотиваций: Межрегион. сб. научн. работ, посвящ. 85-летию образования Воронежского госуниверситета. Вып. 6. – Воронеж: ВГУ, 2003. – С. 94-99.

13. Органов Р.Г. Первичная профилактика ишемической болезни сердца / Р. Г. Органов. – М.: Медицина, 1990. – 160 с.

14. Органов Р.Г. Факторы риска атеросклероза и ишемической болезни сердца. Вопросы профилактики / Под ред. Е.И. Чазова // Болезни сердца и сосудов: руководство для врачей. – М., 1992. – С. 155-177.

15. Титов В.Н. Физиологические основы транспорта в крови жирных кислот / В.Н. Титов // Кардиология. – 1998. – Т.38, № 1. – С. 143-149.