

## ЗНАЧИМОСТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ В РАЗВИТИИ ДИСЛИПИДЕМИИ ПРИ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕССЕ, ИНДУЦИРОВАННОМ БАКТЕРИАЛЬНЫМ ЭНДОТОКСИНОМ *E. COLI*

Чепелева Е.Н., Висмонт Ф.И.

Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра патологической физиологии, г. Минск

**Ключевые слова:** дислипидемия, эндотоксемия, печень, оксидативный стресс.

**Резюме:** исследование посвящено определению особенностей изменения обмена холестерина (ХС) липопротеинов плазмы крови и функционального состояния печени при бактериальной эндотоксемии у крыс. Установлено, что состояние функциональной активности печени имеет важное значение в механизмах дислипидемии, а именно в изменении содержания ХС липопротеинов в сыворотке крови при оксидативном стрессе, индуцированном эндотоксином *E. Coli*.

**Resume:** the study is devoted to the determination of the specific features of changes in cholesterol metabolism of plasma lipoproteins and the functional state of the liver during bacterial endotoxemia in rats. It has been established that the state of the functional activity of the liver is important in the mechanisms of dyslipidemia, namely, in the change in the content of lipoproteins cholesterol in the blood serum under oxidative stress induced by endotoxin *E. Coli*.

**Актуальность.** Известно, что функциональное состояние печени влияет на выраженность и исходы различных интоксикаций экзо- и эндогенного происхождения. Показано, что функциональная недостаточность печени сопровождается нарушением обменных процессов, особое значение среди которых имеют изменения в метаболизме липидов и их производных, обеспечивающих пластические и энергетические потребности организма [3, 5, 8]. Многочисленные данные экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что важнейшее значение в повреждении печени, вызванном бактериальным эндотоксином, принадлежит к активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1, 2, 4, 7, 9, 10].

**Цель:** выяснение значимости функционального состояния печени в развитии дислипидемии при оксидативном стрессе.

**Задачи:** 1. Определить особенности обмена холестерина липопротеинов (ХС ЛП) плазмы крови при бактериальной эндотоксемии у крыс; 2. Изучить особенности функционального состояния печени при бактериальной эндотоксемии у крыс.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на ненаркотизированных 40 белых нелинейных крысах обоих полов массой  $200 \pm 20$  г. Для достоверности условий исследования опыты выполнялись после 12-ч. голодания крыс при свободном доступе к питьевой воде.

Эндотоксинемия моделировалась путем однократного внутрибрюшинного введения бактериального липополисахарида (ЛПС) – эндотоксина *E. Coli* (серотип O111:B4, «Sigma», США) в дозе 2,5 мг/кг. Острое токсическое повреждение печени моделировалось общепринятым методом: однократным интрагастральным

введением крысам раствора четыреххлористого углерода (ЧХУ,  $CCl_4$ ) на масле подсолнечном в соотношении 1 к 1, из расчета 3,5 мл/кг.

Кровь и ткань печени забирались сразу после декапитации крыс, которая проводилась через 24 ч. после введения ЛПС или затравки животных ЧХУ. Навеска печени массой около 300 мг гомогенизировалась в этиловом спирте. О тяжести поражения печени судили по изменению соотношения активности АЛАТ/АсАТ и показателя тимоловой пробы в сыворотке крови.

Из сыворотки крови выделялась суммарная фракция ЛПОНП+ЛПНП и ЛПВП по методике M.Burstein, J.Samaille [6]. После экстракции липидов из фракций ЛП и тканевых гомогенатов по методу М.Креховой, М.Чехрановой [4] в липидных экстрактах определялось содержание ХС колориметрическим методом.

Активность процессов ПОЛ в крови и печени оценивали по содержанию в них таких продуктов как малоновый диальгид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ), а состояние системы антиоксидантной защиты по концентрации а-токоферрола (а-ТФ) и активности каталазы (КТ). Концентрацию МДА определяли спектрофотометрически методом M. Mihara, M. Uchiyama (1978). Определение концентрации ДК проводилось спектрофотометрически по методу, предложенному В.А. Костюком и др. (1984). Для определения уровня ОШ использовался спектрофотометрический метод V.L. Fletcher et al. (1973). Содержание а-ТФ в крови и ткани печени определяли флюоресцентным методом Р.Ч. Черняускене с соавт. (1984). Активность КТ определяли колориметрическим методом М.А. Королюка и соавт. (1984), в модификации В.Н. Корнейчука с соавт. (1992).

Полученные в ходе исследования данные подвергались обработке общепринятыми методами вариационной статистики. Значения  $p < 0,05$  рассматривались как достоверные.

**Результаты и их обсуждение.** Показано, что действие ЛПС через 24 ч. после инъекции привело к увеличению массы печени крыс на 22% с  $7,83 \pm 0,39$  г до  $9,55 \pm 0,32$  г ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ), повышению органно-весового коэффициента – на 24% с  $0,025 \pm 0,001$  до  $0,031 \pm 0,001$  ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ). В условиях эндотоксинемии, вызванной введением ЛПС, повреждение печени сопровождалось развитием мезенхимально-воспалительного и цитолитического синдромов, лабораторными критериями которых являются изменение показателя тимоловой пробы и ферментемия соответственно. Установлено, что через 24 ч. после введения ЛПС наблюдалось увеличение соотношения активности АЛАТ/АсАТ в сыворотке крови с  $0,57 \pm 0,05$  до  $0,82 \pm 0,04$  ( $p < 0,002$ ,  $n=10$ ); показатель тимоловой пробы увеличивался на 101% с  $1,97 \pm 0,31$  до  $3,96 \pm 0,35$  ед. ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ).

Установлено, что действие ЛПС в организме сопровождается активацией процессов ПОЛ. Так, количество ДК в печени увеличивалось на 25,6% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) и 38,2% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) через 120 и 180 мин после инъекции эндотоксина, а в плазме крови на 14,5 % ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) на 180 мин эндотоксинемии. Концентрация МДА в печени в этих условиях возрастала, соответственно, на 18,8% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) и 32,2% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ), в плазме крови на 70,8% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) и 91,5% ( $p < 0,05$ ,  $n=6$ ). Уровень ОШ повышался в плазме на 95,1% ( $p < 0,05$ ,  $n=6$ ) и 128,1% ( $p < 0,05$ ,  $n=6$ ). У животных контрольной группы ( $n=7$ ), через 180 мин после инъекции физ. раствора,

Фундаментальная медицина

концентрация ДК, МДА, и ОШ в плазме крови и печени была равной соответственно  $0,65 \pm 0,036$  Д<sub>233</sub>/мл и  $15,3 \pm 1,21$  Д<sub>233</sub>/г ткани,  $0,78 \pm 0,050$  мкмоль/мл и  $16,5 \pm 0,59$  нМоль/г ткани,  $4,2 \pm 0,71$  ЕД/мл и  $127,1 \pm 12,35$  ЕД/г ткани. Обнаружено, что действие ЛПС в организме у крыс, через 180 мин после инъекции, приводит к снижению концентрации  $\alpha$ -ТФ на 39,2% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) и 25,1% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) в плазме крови и печени соответственно. Активность КТ через 120 и 180 мин после введения эндотоксина снижалась в плазме крови – на 20,1% ( $p < 0,05$ ,  $n=6$ ) и 24,8% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ), в печени – на 15,8% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ) и 19,7% ( $p < 0,05$ ,  $n=7$ ). Содержание  $\alpha$ -ТФ и активность КТ в плазме крови и печени у крыс ( $n=7$ ) в контроле составляла  $2,25 \pm 0,31$  мкмоль/мл и  $193,4 \pm 9,72$  нМоль/г ткани,  $13,5 \pm 3,47$  ЕД/мл и  $316,0 \pm 28,5$  ЕД/г ткани соответственно.

Выявлено, что в условиях оксидативного стресса, вызванного бактериальным эндотоксином, происходят значительные изменения содержания ХС различных классов ЛП крови (рис. 1).

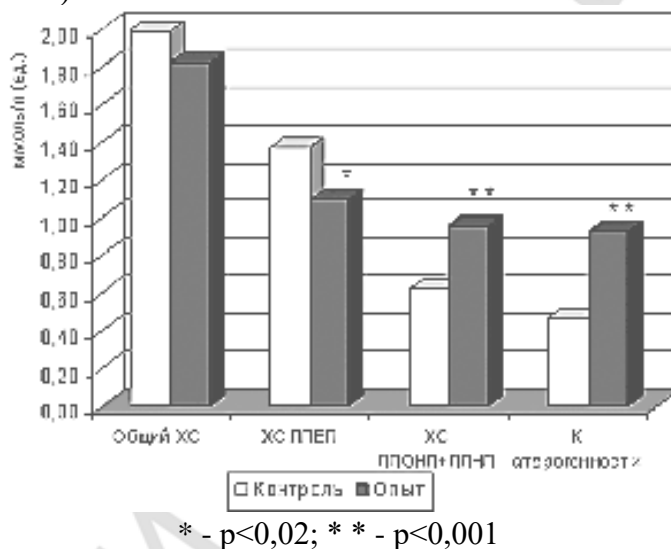


Рис. 1 – Изменения содержания общего ХС, ХС различных фракций ЛП сыворотки крови и  $K_a$  в условиях эндотоксинового стресса, вызванной введением ЛПС

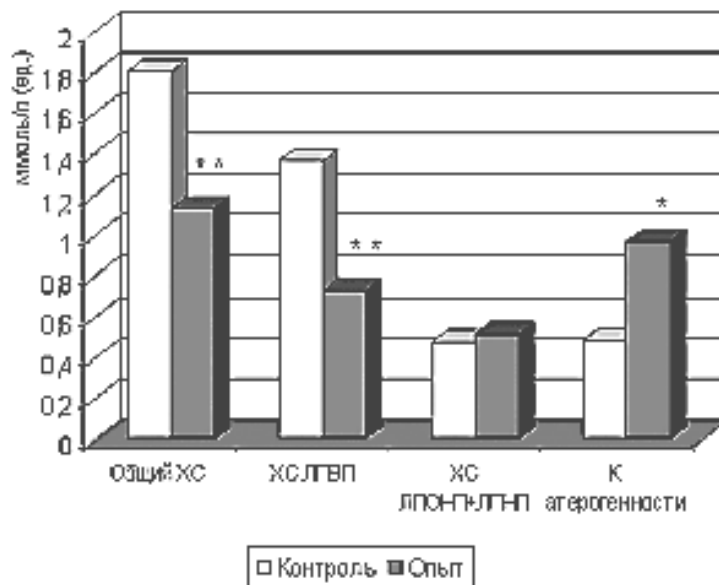
Через 24 ч. после введения ЛПС уровень ХС ЛПВП в крови крыс снижался на 19,7%: с  $1,37 \pm 0,05$  до  $1,10 \pm 0,08$  ммоль/л ( $p < 0,02$ ,  $n=10$ ). Содержание ХС суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП возрастало на 52,4% с  $0,63 \pm 0,05$  до  $0,96 \pm 0,05$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ). Коэффициент атерогенности ( $K_a$ ), который представляет собой отношение (ХС ЛПНП+ЛПОНП)/ХС ЛПВП возрастал на 97,9% с  $0,47 \pm 0,05$  до  $0,93 \pm 0,8$  ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ), что указывает о развитии вторичной атерогенной ДЛП. Увеличение  $K_a$  было обусловлено, главным образом, повышением содержания ХС суммарных фракций ЛПНП+ЛПОНП ( $r=0,93 \pm 0,09$ ,  $p < 0,001$ ), чем снижением уровня ХС ЛПВП в крови крыс ( $r=-0,73 \pm 0,17$ ,  $p < 0,001$ ).

Действие ЧХУ через 24 часа после интрагастрального введения в дозе 3,5 мл/кг животным привело к повышению массы печени на 60,7% с  $5,6 \pm 0,21$  г до  $9,0 \pm 0,45$  г ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ), повышению органно-весового коэффициента на 42,9% с  $0,028 \pm 0,001$  до  $0,040 \pm 0,002$  ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ). При остром токсическом повреждении печени крыс ее макроструктура значительно отличалась от нормальной: происходило увеличение

Фундаментальная медицина

размера органа, отмечалось изменение цвета, так рисунок поверхности печени был неоднородного характера («мускатная печень»).

Установлено, что в условиях токсического поражения печени ЧХУ имеет место выраженная гипохолестеринемией (ГХЕ) и изменения содержания ХС ЛП крови (рис. 2).



\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,001$

Рис. 2 – Изменение содержания общего ХС, ХС в различных фракциях ЛП сыворотки крови и  $K_a$  в условиях острого токсического поражения печени ЧХУ

Через 24 ч. после затравки животных ЧХУ уровень общего ХС в сыворотке крови снижался на 37,6% с  $1,81 \pm 0,11$  до  $1,13 \pm 0,09$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ). ГХЕ была обусловлена, в основном, снижением уровня ХС ЛПВП в крови на 46,7% с  $1,37 \pm 0,05$  до  $0,73 \pm 0,06$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ). Уровень ХС суммарной фракции ЛПНП+ЛПОНП, наоборот, практически не изменялся. В этих условиях имело место увеличение  $K_a$  на 98% с  $0,49 \pm 0,03$  до  $0,97 \pm 0,19$  ( $p < 0,05$ ,  $n=9$ ), обусловленное снижением содержания ХС ЛПВП, однако не изменением в сыворотке крови уровня ХС суммарных ЛПНП и ЛПОНП. Острое токсическое повреждение печени сопровождалось увеличением содержания общего ХС в ткани печени на 27,5% в сравнении с группой контроля: с  $0,247 \pm 0,006$  до  $0,315 \pm 0,008$  мг/100 мг ( $p < 0,001$ ,  $n=10$ ).

Полученные в ходе исследования данные о понижении содержания ХС ЛПВП в сыворотке крови и увеличении уровня ХС в ткани печени, вероятнее всего свидетельствуют о том, что в условиях повреждения печени ЧХУ подавляется в печени синтез насцентных ЛПВП, нарушается включение ХС в формирующиеся частицы ЛПВП и происходит его накопление в гепатоцитах. Свидетельством чего является обнаруженная отрицательная корреляционная связь средней силы между уровнем ХС ЛПВП и содержанием ХС в печени ( $r = -0,57 \pm 0,21$ ,  $p < 0,02$ ).

Так, сравнение характера и направленности изменений показателей обмена ЛП в условиях повреждения печени при действии ЧХУ и бактериального эндотоксина, позволяют сделать вывод, что в обеих ситуациях у животных развивается вторичная



*Фундаментальная медицина*

атерогенная ДЛП, которая имеет различную природу. В результате влияния бактериальной эндотоксинемии атерогенная ДЛП обуславливается как увеличением уровня ХС суммарной фракции ЛПНП и ЛПОНП, так и снижением содержания ХС ЛПВП. ДЛП, формирующаяся под воздействием ЧХУ, вероятно, обусловлена синтетической дисфункцией печени, что обуславливается как острым понижением уровня ХС ЛПВП и общего ХС в сыворотке крови, так и увеличением количества ХС в печени.

**Выводы:** 1. Полученные данные позволяют заключить, что состояние функциональной активности печени имеет важное значение в механизмах дислипидемии, а именно в изменении содержания ХС ЛП в сыворотке крови при оксидативном стрессе, индуцированном бактериальной эндотоксинемией. 2. Степень снижения содержания ХС ЛПВП в крови отражает тяжесть ее повреждения.

**Литература:**

1. Банзаракшеев, В. Г. Патологическое обоснование результатов моделирования атерогенной дислипидемии у крыс / В. Г. Банзаракшеев // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2016. – № 3. – С. 33-36.
2. Банзаракшеев, В. Г. Патологическая оценка состояния антиоксидантной системы организма крыс при дислипидемии / В. Г. Банзаракшеев, Е. Г. Седунова // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. – 2016. – № 1. – С. 29-32.
3. Гурин, В. Н. Обмен липидов при гипотермии, гипертермии и лихорадке / В. Н. Гурин. – Мн.: Беларусь, 1986. – 190 с.
4. Крехова, М. А. Фракционное определение эфиров холестерина в крови и тканях с помощью хроматографии в тонком слое / М. А. Крехова, М. К. Чехранова // *Вопросы медицинской химии*. – 1971. – Т.17, №1. – С. 93–98.
5. Bassani, L. Lipid profile of cirrhotic patients and its association with prognostic scores: a cross-sectional study / L. Bassani, S. A. Fernandes, F. V. Raimundo, D.L. Harter et al. // *Arq Gastroenterol*. – 2015. – № 52(210) – P. 5.
6. Burstein, M. Sur la clarification du serum lipemique par l'heparine in vitro / M. Burstein, J. Samaille // *C. R. Acad. Sci.(Paris)*. – 1955. – Vol. 241, № 9. – P. 664-665.
7. Lassenius, M. Bacterial Endotoxin Activity in Human Serum Is Associated With Dyslipidemia, Insulin Resistance, Obesity, and Chronic Inflammation / M. Lassenius et al. – 2011. – № 8. – P. 1809-1815.
8. Ridgway, N. D. The role of phosphatidylcholine and choline metabolites to cell proliferation and survival / N. D. Ridgway // *Crit Rev Biochem Mol Biol*. – 2013. – № 48. – P. 20-38.
9. Rotimi, S. Tissue dyslipidemia in salmonella-infected rats treated with amoxillin and pefloxacin / S. Rotimi et al. // *Lipids in Health and Disease*. – 2012. – № 11. – P. 152-163.
10. Wahby, M. LPS-induced oxidative inflammation and hyperlipidemia in male rats: The protective role of *Origanum majorana* extract / M. Wahby et al. // *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. – 2016. – № 5. – P. 291-298.