

Особенности изменения содержания холестерина в липопротеинах крови и в печени у крыс при повреждении печени различного генеза

Показано, что в условиях эндотоксинемии, вызванной введением бактериального липополисахарида пирогенала, и острого токсического поражения печени гепатотропным ядом СС14 происходят существенные изменения содержания холестерина (ХС) в различных классах липопротеинов (ЛП) сыворотки крови крыс, приводящие к развитию вторичной атерогенной дислипидемии (ДЛП). При действии пирогенала ДЛП обусловлена повышением содержания ХС суммарной фракции ЛПОНП и ЛПНП и снижением уровня ХС ЛПВП. При действии СС14 развитие ДЛП связано со снижением общего ХС и ХС ЛПВП в крови и сопровождается повышением содержания ХС в печени.

Ключевые слова: эндотоксинемия, пирогенал, острое токсическое поражение печени, холестерин, липопротеины, дислипидемия.

T. V. Korotkevich, F. I. Vismont

Special changes in blood lipoproteins and total liver cholesterol content in rats at liver injury of various origins

It was shown that both endotoxemia caused by bacterial lipopolysaccharide pyrogenal injection and endotoxemia caused by acute toxic liver injury with hepatic poison CCl₄ lead to considerable changes in cholesterol content of blood serum lipoproteins in rats, which result in secondary atherogenic dislipoproteinemia (DLP). Pyrogenal caused DLP by increasing the amount of low and very low density lipoprotein cholesterol while high density lipoprotein (HDL) cholesterol blood level was diminished. DLP caused by CCl₄ related to total and HDL cholesterol blood level reduction and was accompanied by increase of total cholesterol content in liver.

Key words: endotoxemia, pyrogenal, acute toxic liver injury, cholesterol, lipoproteins, dislipoproteinemia.

Известно, что выраженность и исходы различных экзо- и эндогенных интоксикаций во многом зависят от функционального состояния печени. В свою очередь, функциональная недостаточность печени часто сопровождается нарушением обменных процессов, среди которых особое значение имеет изменение метаболизма липидов [1, 6, 8]. Липиды и их производные обеспечивают энергетические и пластические потребности организма, участвуют в развитии воспаления, лихорадки, в процессах детоксикации, реакциях гемостаза, регулируют активность иммунокомпетентных клеток и т.д. [3, 5].

Целью настоящего исследования было изучение особенностей изменения содержания холестерина (ХС) в различных классах липопротеинов (ЛП) крови и в печени у крыс в условиях эндотоксинемии, вызванной введением бактериального липополисахарида пирогенала, и сравнение характера и направленности изменений изучаемых показателей с таковыми в условиях острого токсического поражения печени, вызванного гепатотропным ядом СС14.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 40 ненаркотизированных белых беспородных крысах обоего пола массой 180-220 г. Для стандартизации условий эксперимента опыты проводились после 12-часового голодания животных при свободном доступе к воде.

Эндотоксинемию вызывали путем однократного внутрибрюшинного введения бактериального липополисахарида (ЛПС) пирогенала в дозе 3,0 мг/кг. Пирогенал, в зависимости от применяемой дозы, оказывает как иммуномодулирующий и пирогенный эффекты (0,1-5 мкг/кг), так и цитокин-опосредованное повреждение органов, вплоть до развития эндотоксинового шока с явлениями полиорганной недостаточности (10-30 мг/кг) [2]. Острое токсическое поражение печени вызывали однократным интрагастральным введением животным раствора СС14, приготовленного на подсолнечном масле в соотношении 1:1, из расчета 3,5 мл/кг. Данная экспериментальная модель является классической, хорошо воспроизводимой и представляет собой своеобразный «стандарт» повреждения печени.

У всех животных измеряли ректальную температуру с помощью электротермометра фирмы «Microlife» (Швейцария). Кровь, ткань печени и надпочечники забирали сразу после декапитации животных, которую проводили через 24 часа после введения ЛПС или затравки животных СС14. Органы взвешивали, навеску печени (массой около 300 мг) и оба надпочечника гомогенизировали в этиловом спирте.

Тяжесть поражения печени оценивали по изменению показателя тимоловой пробы и соотношения активности АЛАТ/АСАТ в сыворотке крови [4]. Из сыворотки крови выделяли суммарную фракцию ЛП очень низкой и низкой плотности (ЛПОНП+ЛПНП) и ЛП высокой плотности (ЛПВП) по методу M. Burstein, J. Samaille [9]. После экстракции липидов из фракций ЛП и тканевых гомогенатов по методу [7] в липидных экстрактах определяли содержание ХС колориметрическим методом. Все полученные данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что через 24 часа после внутрибрюшинного введения крысам бактериального ЛПС пирогенала в дозе 3,0 мг/кг ректальная температура крыс повышается на $2,3^{\circ}\text{C}$: с $36,6^{\circ}\pm 0,16^{\circ}\text{C}$ до $38,9^{\circ}\pm 0,11^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,001$; $n = 10$). Лихорадочная реакция, развивающаяся в ответ на введение ЛПС, является одним из проявлений синдрома системного воспалительного ответа (ССВО), обусловленного запуском каскада продукции провоспалительных цитокинов и других медиаторов воспаления в ответ на бактериальную эндотоксинемию.

Другим важнейшим проявлением ССВО является развитие моно- и полиорганной недостаточности, в частности повреждение печени. Показано, что действие ЛПС через 24 часа приводит к увеличению массы печени крыс на 22%: с $7,83 \pm 0,39$ г до $9,55 \pm 0,32$ г ($p < 0,001$; $n = 10$), органно-весавого коэффициента - на 24%: с $0,025 \pm 0,001$ до $0,031 \pm 0,001$ ($p < 0,001$; $n = 10$).

Повреждение печени в условиях эндотоксинемии, вызванной введением ЛПС, сопровождалось развитием цитолитического и мезенхимально-воспалительного синдромов, лабораторными критериями которых являются ферментемия и изменение показателя тимоловой пробы, соответственно. Установлено, что через 24 часа после введения ЛПС наблюдается 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 увеличивается на 101%: с $1,97 \pm 0,31$ до $3,96 \pm 0,35$ ед. ($p < 0,001$; $n=10$).

Показано, что в условиях бактериальной эндотоксинемии происходят существенные изменения содержания ХС в различных классах ЛП крови (рис. 1). Через 24 часа после введения ЛПС уровень ХС ЛПВП в крови крыс снижается 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 возрастает на 52,4%: с $0,63 \pm 0,05$ до $0,96 \pm 0,05$ ммоль/л ($p < 0,001$; $n=10$) и коррелирует с выраженностью неспецифического мезенхимального воспаления ($r=0,54 \pm 0,20$; $p < 0,02$). Коэффициент атерогенности (отношение ХС (ЛПОНП+ЛПНП)/ХС ЛПВП) возрастает на 97,9%: с $0,47 \pm 0,05$ до $0,93 \pm 0,8$ ($p < 0,001$; $n=10$), что свидетельствует о развитии вторичной атерогенной дислипотеинемии (ДЛП). Увеличение коэффициента атерогенности обусловлено, в большей степени, повышением содержания ХС суммарных ЛПОНП и ЛПНП ($r=0,93 \pm 0,09$; $p < 0,001$), чем понижением уровня ХС ЛПВП в крови крыс ($r=-0,73 \pm 0,17$; $p < 0,001$).

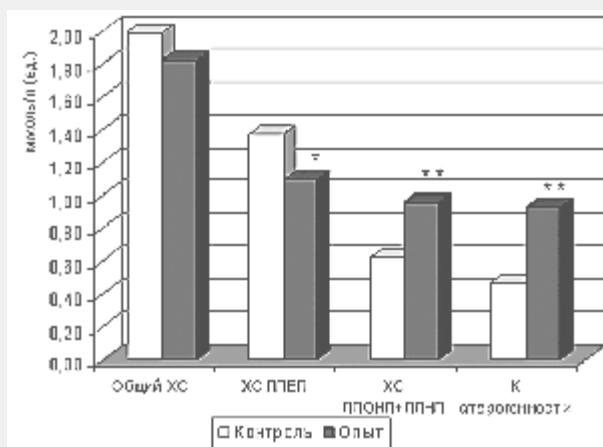


Рис. 1. Изменения содержания общего ХС, ХС в различных классах ЛП сыворотки крови и коэффициента атерогенности в условиях ЛПС-индуцированного повреждения печени. * - $p < 0,02$; ** - $p < 0,001$.

Одной из задач нашего исследования было сопоставить изменения показателей ЛП обмена при ЛПС-индуцированном гепатите и при токсическом поражении печени, вызванным гепатотропным ядом СС14. Опыты показали, что интрагастральное введение крысам СС14 в дозе 3,5 мл/кг через 24 часа вызывает у животных выраженную гипотермию: ректальная температура снижается на $0,8^{\circ}\text{C}$: с $37,2^{\circ}\text{C} \pm 0,16^{\circ}\text{C}$ до $36,4^{\circ}\text{C} \pm 0,14^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$; $n=10$). Действие СС14 приводит к увеличению массы печени на 60,7%: с $5,6 \pm 0,21$ г до $9,0 \pm 0,45$ г ($p < 0,001$; $n=10$), увеличению органно-весового коэффициента на 42,9%: с $0,028 \pm 0,001$ до $0,040 \pm 0,002$ ($p < 0,001$; $n=10$). Макроструктура печени крыс при остром токсическом гепатите существенно отличалась от нормы: увеличивался размер органа, наблюдалось изменение цвета, неоднородный характер рисунка поверхности печени («мускатная печень»).

Установлено, что токсическое поражение печени СС14 сопровождается выраженной гипохолестеринемией и изменением содержания ХС ЛП крови (рис. 2). Так, через 24 часа после затравки крыс СС14 уровень общего ХС сыворотки крови снижается на 37,6%: с $1,81 \pm 0,11$ до $1,13 \pm 0,09$ ммоль/л ($p < 0,001$; $n=10$).

Гипохолестеринемия обусловлена, главным образом, снижением содержания ХС ЛПВП в крови с $1,37 \pm 0,05$ до $0,73 \pm 0,06$ ммоль/л ($p < 0,001$; $n=10$), т.е. на 46,7%. Содержание ХС суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП, напротив, практически не изменяется. Установлено, что в условиях действия СС14 происходит увеличение коэффициента атерогенности на 98%: с $0,49 \pm 0,03$ до $0,97 \pm 0,19$ ($p < 0,05$; $n=9$), которое обусловлено понижением содержания ХС ЛПВП, но не изменением уровня ХС суммарных ЛПОНП и ЛПНП в крови. Развитие острого токсического поражения печени приводит к повышению содержания общего ХС в ткани печени на 27,5% по сравнению с контролем: с $0,247 \pm 0,006$ до $0,315 \pm 0,008$ мг/100 мг ($p < 0,001$; $n=10$).

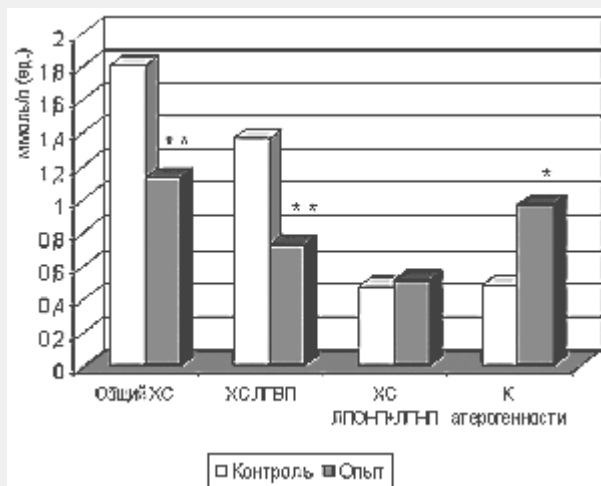


Рис. 2. Изменение содержания общего ХС, ХС в различных классах ЛП сыворотки крови и коэффициента атерогенности в условиях острого токсического повреждения печени СС14. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$.

Полученные данные о снижении содержания ХС ЛПВП в крови и повышении уровня ХС в ткани печени, по-видимому, свидетельствуют о том, что при поражении печени СС14 угнетается синтез насцентных ЛПВП в печени, в результате чего нарушается включение ХС в формирующиеся ЛПВП-частицы и одновременно происходит его накопление в гепатоцитах (жировая дистрофия печени). Это подтверждается обнаружением отрицательной корреляционной связи средней силы между уровнем ХС ЛПВП и содержанием ХС в печени ($r = -0,57 \pm 0,21$; $p < 0,02$).

Таким образом, сопоставление направленности и характера изменений показателей обмена ЛП при повреждении печени в условиях бактериальной эндотоксинемии и при действии СС14, позволяет сделать заключение, что в обоих случаях у крыс развивается вторичная атерогенная ДЛП, которая имеет различное происхождение. Под влиянием бактериального ЛПС пирогенала атерогенная ДЛП обусловлена как повышением содержания ХС суммарной фракции ЛПОНП и ЛПНП, так и понижением уровня ХС ЛПВП. ДЛП, развивающаяся под влиянием СС14, по-видимому, обусловлена нарушением синтетической функции печени, что проявляется как резким снижением уровня общего ХС и ХС ЛПВП в крови, так и повышением содержания ХС в печени.

Результаты исследования позволяют выделить показатель липопротеинового обмена, однонаправленные изменения которого имели место, как при ЛПС-индуцированном гепатите, так и при остром токсическом поражении печени

СС14. Таким показателем является уровень ХС ЛПВП крови, снижение которого отмечается как в условиях действия бактериального эндотоксина, так и при повреждении печени СС14. Можно предположить, что степень снижения содержания ХС ЛПВП в крови отражает тяжесть повреждения паренхимы печени.

Литература

1. Алимова Е.К., Аствацатурьян А.Т., Жаров Л.В. Липиды и жирные кислоты в норме и при ряде патологических состояний. - М.: Медицина, 1975. – 280 с.
2. Бардахчян Э.А., Харланова Н.Г. Структурно-функциональные изменения печени и мозга при эндотоксиновом шоке (ультраструктурное исследование) // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 1997. - № 1. - С. 17-21.
3. Гурин В.Н. Обмен липидов при гипотермии, гипертермии и лихорадке. - Мн.: Беларусь, 1986. - 190 с.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. - Мн.: Белорусская наука, 2000. - 776 с.
5. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – СПб.: Питер Ком, 1999. – 512 с.
6. Коломийцева И. К. Радиационная биохимия мембранных липидов.- М.: Наука, 1989. - 181 с.
7. Крехова М.А., Чехранова М.К. Фракционное определение эфиров холестерина в крови и тканях с помощью хроматографии в тонком слое // Вопросы медицинской химии. - 1971. - Т.17, №1. - С. 93–98.
8. Лабановская Ж.Л., Силонова Г.И., Селипер И.С. Липиды и липопротеиды крови при заболеваниях печени // Клиническая медицина – 1980. – Т. 58. - №1. – С. 56-62.
9. Burstein M., Samaille J. Sur la clarification du serum lipemique par l'heparine in vitro // C. R. Acad. Sci.(Paris). - 1955. - Vol. 241, № 9. - P. 664–665.