

УДК 615.2:665.2

**Влияние концентрата полиненасыщенных жирных кислот
на показатели окислительного стресса
при экспериментальной дислипидемии**

© *Ламажпова Галина Петровна*

доктор биологических наук, доцент
Бурятский государственный университет
Россия, 670002, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская, 36а
E-mail: lamazhap@mail.ru

© *Жамсаранова Сэсэгма Дашиевна*

доктор биологических наук, профессор
Бурятский государственный университет
Россия, 670002, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская, 36а
E-mail: zhamsarans@mail.ru

© *Сынгеева Эржэна Владимировна*

научный сотрудник
Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управ-
ления
670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40В
E-mail: syngeeva@mail.ru.

Целью работы явилось изучение влияния липосомальной формы концентрата полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) на показатели окислительного стресса при экспериментальной дислипидемии. Установлено, что воспроизведение у крыс дислипидемического состояния сопровождалось накоплением конечных продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови и печени, а также снижением активности глутатионовой антиоксидантной защиты организма животных. В результате проведенных исследований выявлено, что введение подопытным животным липосомальной формы концентрата ПНЖК на фоне дислипидемии вызывало снижение параметров окислительного стресса организма. Наблюдалось снижение малонового диальдегида в сыворотке крови и печени экспериментальных животных, а также повышение активности глутатионпероксидазы и снижение активности глутатионредуктазы, которые приводили к увеличению содержания восстановленного глутатиона. Полученные результаты указывают на перспективность использования липосомальной формы концентрата ПНЖК при разработке биологически активных добавок, лекарственных средств и продуктов функционального питания.

Ключевые слова: окислительный стресс; дислипидемия; полиненасыщенные жирные кислоты; липосомы; антиоксидантная система; глутатион.

Введение

Алиментарная дислипидемия (ДЛ) признается одним из поддающихся изменению факторов риска атеросклероза и ишемической болезни сердца. ДЛ характеризуется комплексом нарушений, включающих в себя, помимо повышения уровня липидов, интенсификацию их перекисного окисления, изменение функционирования различных систем организма, в том числе антиоксидантной. Выявленные процессы вызывают отклонения в работе всего организма, в особенности иммунитета, главным образом, за счет патологического изменения состава клеточных мембран клеток [1].

Изменение структуры и состава клеточных мембран связывают с процессами свободнорадикального окисления липидов. Так, окислительная модификация липопротеинов низкой и очень низкой плотности способствует высвобождению из них холестерина и встраиванию его в биологические мембраны. Одной из причин появления модифицированных форм липопротеидов низкой плотности может быть образование малонового диальдегида (МДА), а также процессы, непосредственно связанные со взаимодействием молекул с активными радикалами. По мнению многих исследователей, ведущую роль в процессе развития атеросклероза, наряду с другими нарушениями, играют именно процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2].

Для профилактики и лечения дислипидемических состояний широко используются биологически активные добавки (БАД) из липидов морских гидробионтов, богатые ω -3 полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК), обладающие высокой физиологической активностью. Во многих клинических и экспериментальных исследованиях препараты на основе липидов морских гидробионтов обладали противовоспалительным, антидиабетическим и гиподислипидемическим действиями и, поэтому, рекомендуются для комплексной профилактики и вспомогательного лечения широкого круга заболеваний [3]. ω -3 ПНЖК оказывают модулирующее влияние на структурно-функциональную организацию клеточных мембран, активность мембраносвязывающих ферментов и биосинтез эйкозаноидов. По данным ряда авторов для ПНЖК характерна высокая радикал-перехватывающая активность и способность индуцировать активность и экспрессию генов антиоксидантных ферментов [4].

Целью данного исследования явилось изучение изменений в антиоксидантной системе под влиянием липосомальной формы концентрата полиненасыщенных жирных кислот при экспериментальной дислипидемии *in vivo*.

Материалы и методы

В работе использованы липосомы, полученные из фосфолипидов печени байкальской нерпы [5]. Методом комплексообразования с мочевиной [6] получен концентрат ПНЖК из жира нерпы. Исследование выполнено на взрослых крысах линии Wistar. Использование животных в эксперименте проводилось с соблюдением норм и правил, регламентированных законодательством РФ, в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (GLP)», утвержденными Приказом Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003, № 267. Экспериментальную гиперлипидемию у крыс вызывали согласно методическим указаниям (МУК 2.3.2.721-98.2.3.2)

введением в рацион в течение 21 дня: 3–5% холестерина, 0,3% 6-метилтиоурацила, 1%-ной холевой кислоты и 5%-ного свиного сала.

Крысы были разделены на 3 группы (по 10 особей):

1-я группа — интактная;

2- группа — контрольная (крысы получали атерогенную диету в течение 21 дня);

3- группа — опытная (крысы после атерогенной диеты получали *per os* липосомальную суспензию с концентратом ПНЖК в дозе 20 мг/кг массы тела в течение 14 дней).

Состояние антиоксидантной системы организма оценивали по уровню продуктов перекисного окисления липидов (малонового диальдегида), по активности глутатионредуктазы (GR), активности глутатионпероксидазы (GSH-Px) и количеству глутатиона восстановленного (GSH).

Концентрацию МДА в сыворотке крови и в печени определяли фотометрически при длине волны 532 нм в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [7].

Активность GR определяли на спектрофотометре по методу [8]. Активность GSH-Px оценивали по измерению содержания GSH в пробах до и после инкубации с модельным субстратом в ходе цветной реакции с 5,5'-дитио-бис-2-нитробензойной кислотой (ДТНБК) [9]. Количество GSH определяли спектрофотометрически по методу [10].

Результаты экспериментов обрабатывали статистически с использованием стандартных компьютерных программ.

Результаты и обсуждение

Исследовав жирнокислотный состав полученного концентрата, установлено, что общий уровень ненасыщенных жирных кислот в нем составлял 92,67% (в том числе ω -3 ПНЖК — 12,20%, ω -6 ПНЖК — 15,91%), при этом соотношение ω -6/ ω -3 ПНЖК составило 1,3:1 [11].

Ранее было показано, что пероральное введение *in vivo* концентрата ПНЖК оказывало выраженный антиатерогенный эффект, который проявлялся в восстановлении липидного профиля сыворотки крови экспериментальных животных [12]. Гиполипидемическое действие концентрата, по видимому, объясняется как восстановлением структурно-функциональных свойств мембран, так и антиоксидантными свойствами ПНЖК.

Как показано на рисунке 1, уровень содержания МДА в сыворотке крови животных, находившихся на атерогенной диете, повысился на 34,2% по сравнению с группой «интакт».

После получения липосомальной формы концентрата ПНЖК содержание МДА в сыворотке крови 3 группы животных снизилось на 15,6% по сравнению с контрольной группой.

На рисунке 2 показано изменение уровня МДА в печени экспериментальных животных.

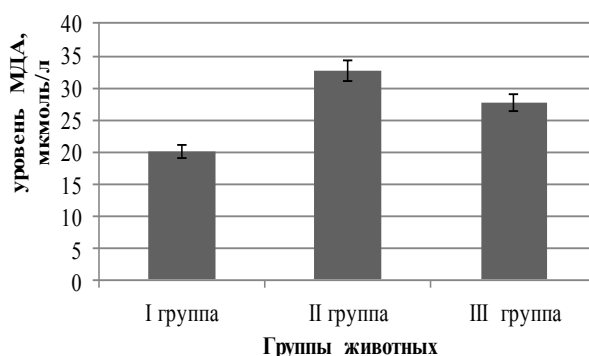


Рис. 1. Уровень МДА в сыворотке крови экспериментальных животных при введении липосомальной формы концентрата ПНЖК

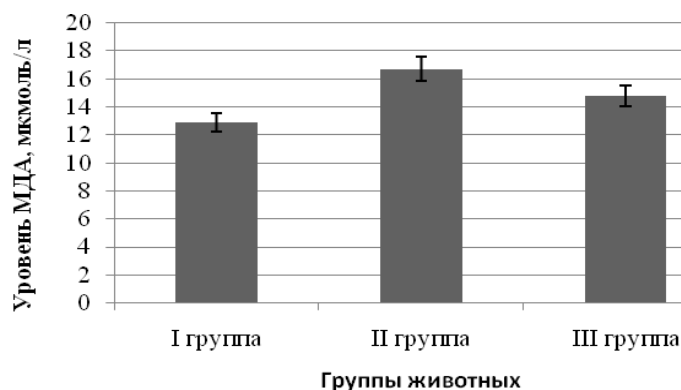


Рис. 2. Уровень МДА в печени экспериментальных животных при введении липосомальной формы концентрата ПНЖК

При ДЛ содержание МДА в печени крыс контрольной группы достоверно повысилось на 22,7% по сравнению с таковыми в интактной группе животных. При введении липосомальной формы концентрата ПНЖК наблюдалось снижение уровня МДА в печени животных на 11,4% по сравнению с соответствующим показателем в контроле.

На основании полученных результатов — показателей уровня МДА в сыворотке крови и печени, установлено, что при развитии ДЛ животные находились в состоянии окислительного стресса. Введение липосомальной формы концентрата ПНЖК животным с ДЛ оказало ингибирующее влияние на пероксидацию липидов, о чем свидетельствовало уменьшение содержания МДА в тканях организма. Понижение уровня МДА в тканях животных после введения ПНЖК объясняется, по-видимому, активацией составляющих антиоксидантной системы организма. Как известно, глутатионпероксидаза катализирует этот процесс, предотвращая превращение гидроперекисей липидов в МДА [9]. Повышение активности антиокислительных механизмов при различных патологиях связано, наряду с антиоксидантными ферментами, и с низкомолекулярными клеточными компонентами, такими как глутатион.

Как следует из приведенных данных таблицы 1, при развитии ДЛ у животных активность глутатионпероксидазы в эритроцитах снизилась на 48,9% по сравнению с интактной группой.

Таблица 1

Активность ферментов глутатиона в эритроцитах крови крыс, получавших липосомальную форму концентрата ПНЖК, на фоне экспериментальной гиперлипидемии (n=10)

Показатель	Группы животных		
	Интактная	Контрольная	Опытная
Активность глутатионпероксидазы (нмоль / в мин г Hb)	14,6±0,05	9,8±0,08*	11,4±0,06**
Активность глутатионредуктазы (нмоль / в мин г Hb)	5,8±0,04	8,7±0,07*	6,7±0,02**

Примечание: * — достоверное отклонение значения в контрольной группе по сравнению с интактом ($p \leq 0,05$), ** — достоверное отклонение значения в опытной группе по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$)

После получения липосомальной формы ПНЖК активность глутатионпероксидазы в эритроцитах опытных животных повысилась на 14% по сравнению с контрольной группой. При экспериментальной дислипидемии у животных повышалась активность глутатионредуктазы на 40,2% по сравнению с интактной группой. У опытной группы животных активность глутатионредуктазы снизилась на 22,9% по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2

Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах крови крыс, получавших липосомальную форму концентрата ПНЖК, на фоне экспериментальной гиперлипидемии (n=10)

Показатель	Группы животных		
	Интактная	Контрольная	Опытная
Содержание восстановленного глутатиона (10^{-5} мкмоль / г Hb)	9,7±0,04	5,2±0,07*	6,8±0,02**

Примечание: * — достоверное отклонение значения в контрольной группе по сравнению с интактом ($p \leq 0,05$), ** — достоверное отклонение значения в опытной группе по сравнению с контролем ($p \leq 0,05$)

Как показано в таблице 2, содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах экспериментальных крыс у животных контрольной группы снизилось на 46% по сравнению с интактными. В опытной группе содержание соответствующего показателя снизилось на 23,5% по сравнению с контрольной группой.

Наблюдаемое в эксперименте ослабление окислительного стресса при использовании липосом с концентратом ПНЖК может быть объяснено ради-

кал-перехватывающей активностью ω -3 жирных кислот, а также индукцией активности антиоксидантных ферментов, что в конечном итоге приводит к увеличению содержания восстановленного глутатиона, как основного внутриклеточного компонента антиоксидантной системы.

Заключение

В результате проведенных экспериментальных исследований выявлено, что введение липосомальной формы концентрата ПНЖК животным на фоне экспериментальной ДЛ, вызванной атерогенной диетой, получены следующие данные: понижение уровня конечных продуктов ПОЛ в сыворотке крови и печени крыс, а также повышение активности ферментов глутатионовой системы, которое приводило к увеличению содержания восстановленного глутатиона.

Таким образом, липосомальную форму концентрата ПНЖК можно рекомендовать в качестве биологически активной добавки как самостоятельно, так и в составе лекарственных средств и функциональных пищевых продуктов.

Литература

1. Виткина Т. И., Караман Ю. К., Касьянов С. П., Лобанова Е. Г., Новгородцева Т. П. Оценка нарушений межсистемной кооперации при экспериментальной дислипидемии и способы их коррекции // Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. XV. № 1. С. 11–13.
2. Давиденко Е. Ф., Шафран М. Г. Атеросклероз и процессы перекисного окисления липидов // Вестник АМН СССР. 1989. № 3. С. 10–18.
3. Кривошапко О. Н., Попов А. М., Артюков А. А., Костецкий Э. Я. Особенности корригирующего действия полярных липидов и биоантиоксидантов из морских гидробионтов при нарушениях липидного и углеводного обмена // Биомедицинская химия. 2012. Т. 58. № 2. С. 189–198.
4. Кравченко Л. В., Аксенов И. В., Авреньева Л. И., Бекетова Н. А., Трусов Н. В., Гусева Г. В. Влияние полиненасыщенных жирных кислот ω -3 на некоторые показатели антиоксидантного потенциала крыс // Вопросы питания. 2013. Т. 82. № 2. С. 4–9.
5. Патент РФ на изобретение № 2308940. Способ получения липосом, обладающих иммунокорригирующим и гепатопротекторным действием / Ламажапова Г. П., Жамсаранова С. Д., Цыренжапов А. В., Николаев С. М. Оpubл. 16 мая 2006 г.
6. Zhamsaranova S. D., Lamazhapova G. P., Syngeeva E. V. Development of a Method to produce a concentrate of polyunsaturated fatty acids // Biosciences Biotechnology Research Asia. 2014. Vol. 11. P. 59–64.
7. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 66–68.
8. Glatzle D., Vuilleumier J. P., Weber F., Decker. K. Glutathione reductase test with whole blood, a convenient procedure for the assessment of riboflavin status in humans // Experientia. 1974. Vol. 30. P. 665–667.
9. Maral J., Puget K., Michelson M. Comparative study of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase levels in erythrocytes of different animals // BBRC. 1977. Vol. 77. P. 1525–1535.
10. Beutler E. Reduced glutathione (GSH) // Red Cell Metabolism, a Manual of Biochemical Methods (Ed. E. Beutler). N.Y.: Grune and Stratton, 1975. P. 112–114.
11. Zhamsaranova S. D., Lamazhapova G. P., Syngeeva E. V. Development of a Method to produce a concentrate of polyunsaturated fatty acids // BBRA Biosciences Biotechnology Research Asia. 2014. Vol. 11. P. 59–64. DOI: 10.13005/bbra/144.

12. Ламажапова, Г. П., Жамсаранова С. Д., Сынгеева Э. В. Влияние липосом с концентратом ПНЖК на липидный профиль сыворотки экспериментальных животных // Вестник ВСГУТУ. 2015. № 1 (52). С. 78–82.

Effect of a Concentrate of Polyunsaturated Fatty Acids on the Indicators of Oxidative Stress in Experimental Dyslipidemia

Galina P. Lamazhapova

Dr. Sci. (Biology), Assistant Prof.

Buryat State University

36a Oktyabrskaya St., Ulan-Ude 670002, Russia

E-mail: lamazhap@mail.ru

Sesegma D. Zhamsaranova

Dr. Sci. (Biology), Prof.

Buryat State University

36a Oktyabrskaya St., Ulan-Ude 670002, Russia

E-mail: zhamsarans@mail.ru.

Erzhena V. Syngeeva

Research assistant

East Siberia State University of Technology and Management

40B Kluchevskaya St., Ulan-Ude 670013, Russia

E-mail: syngeeva@mail.ru

The aim of the study was to study the effect of the liposomal form of the polyunsaturated fatty acids concentrate (PUFA) on the oxidative stress indicators for experimental dyslipidemia. It was established that the reproduction of dyslipidemic state in rats was accompanied by the accumulation of final products of lipid peroxidation in blood serum and liver, as well as a decrease in the activity of glutathione antioxidant protection of animal organisms. As a result of the conducted studies, it was revealed that the introduction of the liposomal form of the PUFA concentrate against the background of dyslipidemia caused the reducing of the parameters of the organism oxidative stress. There was a decrease in the malonic dialdehyde in blood serum and liver of experimental animals, as well as increase in the activity of glutathione peroxidase and decrease in the activity of glutathione reductase, which led to an increase in the content of reduced glutathione. The obtained results indicate the prospects of using liposomal form of PUFA concentrate in the development of biologically active additives, drugs and functional food products.

Keywords: oxidative stress; dyslipidemia; polyunsaturated fatty acids; liposome; antioxidant system; glutathione.