

Гиполипидемическое и антиатеросклеротическое действие симпатолитика резерпина: экспериментальные данные

И.В. Окуневич, Л.К. Хныченко, Н.С. Сапронов

ГУ Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург

Резюме

Целью данного исследования является обнаружение и изучение гиполипидемического и антиатеросклеротического действия симпатолитика резерпина в условиях моделируемой патологии у крыс, морских свинок и кроликов. Проведено сравнение с гиполипидемическими препаратами гемфиброзилом и безафибратом. Установлено, что резерпин (в дозе 0,1 мг/кг) оказывает выраженное гиполипидемическое и антиатеросклеротическое действие, сопоставимое с эффектами фибратов.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, экспериментальная дислипопроteinемия, атеросклероз, резерпин.

The hypolipidemic and antiatherosclerotic activity of sympatholytic reserpine: the experimental data

I.V. Okunevich, L.K. Khnychenko, N.S. Sapronov

Institute for Experimental Medicine of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg

Resume

The aim of this study is to detect and investigate the hypolipidemic and antiatherosclerotic activity of sympatholytic reserpine in rats, guinea pigs and rabbits. The experiments are based on the models of dislipoproteinemia and atherosclerosis. It is shown, that reserpine (in dose 0,1 mg/kg i.p.) significantly reduces dislipoproteinemia and atherosclerosis in comparison to the lipid lowering effects of fibrates.

Key words: arterial hypertension, experimental dislipoproteinemia, atherosclerosis, reserpine.

Статья поступила в редакцию: 30.05.07. и принята к печати: 07.06.00.

Введение

Одним из модифицируемых факторов риска ишемической болезни сердца является дислипопroteinемия (ДЛП) атерогенного характера, которая помимо дисбаланса липидного профиля приводит к появлению в крови патологически измененных липопротеидов низкой плотности (ЛПНП). Перекисно-модифицированные ЛПНП, лежащие в основе формирования атероматозных повреждений сосудистой стенки, способствуют прогрессированию атеросклероза (Ат) и артериальной гипертензии (АГ) [1, 2]. В развитии АГ важная роль принадлежит симпато-адреналовой системе, имеющей сложную организацию: центральные отделы (гипоталамус, ретикулярная формация ствола мозга), периферические симпатические ганглии, нервы и мозговой слой надпочечников. Гиперактивность симпатической нервной системы (гиперсимпатикотония), предшествующая АГ за счет гемодинамических и метаболических нарушений, усиливает течение этой патологии, утяжеляет ДЛП, способствуя генерации структурных (в том числе атеросклеротических) изменений артериальной стенки сосудов и ткани сердца. Гиперсимпатикотония проявляется повышенным артериальным давлением (АД), тахикардией, увеличением сердечного выброса, артериальной, в том числе почечной вазоконстрикцией, задержкой жидкости, гипертрофией миокарда, дисфункцией эндотелия, активацией тромбоцитов, а также инсулино-

резистентностью [3, 4]. Поэтому для снижения повышенной активности симпатической нервной системы используют средства, которые непосредственно блокируют ее на центральном или периферическом уровне, а также создают адренолитический эффект за счет угнетения синтеза медиаторов и подавления секреции катехоламинов (КА) [4, 5].

К препаратам, уменьшающим гиперсимпатикотонию путем периферического ингибирования передачи нервного импульса, относится симпатолитик резерпин, представляющий собой один из алкалоидов индийских растений вида *Rauvolfia*. Резерпин блокирует механизм захвата и депонирования КА (норадреналина) в пресинаптических терминалях нейронов с одновременным нарушением его транспорта, что быстро истощает запасы медиатора. Аналогичное действие резерпин оказывает и в нейронах головного мозга. У пациентов с АГ при терапии резерпином наблюдается постепенное снижение систолического и диастолического АД. Антигипертензивный эффект резерпина сопровождается задержкой ионов Na^+ , но функция почек при этом не ухудшается, что отличает его от других препаратов симпатолитического действия.

Фармакоэкономический анализ отечественного рынка лекарств свидетельствует, что в России чаще, чем в странах Европы, резерпин используют в комбинированных средствах. Созданные комбинации – препараты

Адельфан-Эзидрекс, Бринердин, Кристепин и Трирезид К содержат в своем составе периферические вазодилаторы (дигидралазин, дигидроэргокристин), тиазидные диуретики (гидрохлортиазид, клопамид), калийсодержащую субстанцию, которые усиливают антигипертензивное действие резерпина [6, 7]. Согласно рекомендациям по профилактике и лечению АГ комбинированные антигипертензивные средства, включающие резерпин, могут применяться при необходимости для лечения больных с АГ [7].

В настоящем исследовании изучено влияние резерпина на изменение показателей липидного обмена в условиях развития экспериментальных дислипидемии и атеросклероза. С этой целью нами были предприняты исследования на трех видах животных при моделировании *in vivo* соответствующих патологических состояний, наиболее приближенных к человеку.

Материалы и методы

Эксперименты проведены в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» и сообразуясь с «Правилами по уходу и использованию лабораторных животных» [8].

Исследования выполнены на самцах трех видов: 136 белых крысах (220–250 г), 32 морских свинках (300–350 г) и 30 кроликах (2,5–3,0 кг), выращенных в питомнике РАМН «Рапполово». Животные содержались в условиях естественного освещения, свободного доступа к стандартному корму и питьевой воде. Использование при моделировании ДЛП и Ат разных видов животных обусловлено особенностями липидного профиля крови: у свинок и кроликов основное количество холестерина (ХС) находится в атерогенных ЛПНП и липопротеинах очень низкой плотности (ЛПОНП), а у крыс – в антиатерогенных липопротеинах высокой плотности (ЛПВП) [9]. Резерпин во всех опытах вводили в дозе 0,1 мг/кг внутривентриально (в/б). В качестве эталонных препаратов гиполипидемического действия использовали гемфиброзил и безафибрат в дозе 50 мг/кг перорально.

У крыс ДЛП вызывали однократным введением детергента тритона WR–1339 («Serva», Швейцария) в дозе 225 мг/кг массы тела. Неионный детергент тритон WR–1339 вызывает липемию, характеризующуюся многократным увеличением содержания триглице-

ридов (ТГ), ХС, фосфолипидов, неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) в крови экспериментальных животных [1]. Липолиз у крыс индуцировали (на 15-ый день от начала терапии резерпином) однократным в/б введением раствора адреналина (1,5 мг/кг). Степень липолиза оценивали (через 60 мин после инъекции адреналина) по концентрации НЭЖК, которую определяли унифицированным колориметрическим методом в сыворотке крови.

У морских свинок ДЛП моделировали пероральным скармливанием пищевого ХС в дозе 0,5 г/кг в 2 мл смеси жиров (75 % свиного и 25 % бараньего) в течение 15 дней. Включение в атерогенную диету морских свинок помимо пищевого ХС смеси животных жиров позволило нам создать ДЛП, которая по показателям липидного профиля приближается к таковой у человека [10]. Для оценки степени тяжести ДЛП и прогноза в отношении риска развития Ат использовали холестеринный коэффициент атерогенности [1].

У кроликов алиментарный Ат воспроизводили введением ХС (перорально через зонд) в дозе 0,3 г/кг в прогретом подсолнечном масле, в течение 3-х месяцев. Атероматозные поражения в аорте подсчитывали планметрическим методом [11]. В сыворотке крови определяли уровень липидов: общего ХС, ХС ЛПВП, ТГ с помощью наборов реактивов на основе унифицированных методов. Содержание общего ХС и ТГ в печени и ХС в надпочечниках оценивали колориметрическим методом [11].

Кровь и ткани для биохимических исследований во всех опытах получали после 18-часового голодания крыс, морских свинок или кроликов. Результаты анализировали методом вариационной статистики, используя t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Для выявления возможной гиполипидемической активности, в соответствии с требованиями по доклиническому изучению новых лекарственных средств, были проведены опыты на крысах с длительным введением резерпина без моделирования ДЛП [8]. Из результатов опытов на нормолипидемических крысах (табл. 1) видно, что 21-дневное введение резерпина вызывает достоверное снижение уровня общего ХС и ТГ и не изменяет концентрации ХС ЛПВП, а также НЭЖК в сыворотке крови. Одноре-

Таблица 1
ВЛИЯНИЕ РЕЗЕРПИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В УСЛОВИЯХ НОРМОЛИПИДЕМИИ У КРЫС

№ пп	Группы животных	Липиды сыворотки крови (ммоль/л)				Липиды печени (мг/г)	
		Общий ХС	ХС ЛПВП	ТГ	НЭЖК	Общий ХС	ТГ
1	Интактные	1,74±0,08	0,71±0,13	0,83±0,04	264,5±27,3	3,1±0,22	5,6±0,3
2	Резерпин	1,38±0,11*	0,73±0,11	0,46±0,07*	298,9±13,4	1,92±0,06*	3,4±0,3*
3	Гемфиброзил	1,04±0,14*	0,81±0,10	0,32±0,05*	231,4±12,6	2,60±0,20	6,2±2,0

Примечание:

* – различия достоверны по сравнению с группой 1 при $p < 0,05$; в каждой группе по 12 крыс.

Обозначения:

Общий ХС – общий холестерин; ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ТГ – триглицериды; НЭЖК – неэстерифицированные жирные кислоты.

**ВЛИЯНИЕ РЕЗЕРПИНА НА СОДЕРЖАНИЕ НЕЭСТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (НЭЖК)
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ,
НЕСТИМУЛИРОВАННОГО И СТИМУЛИРОВАННОГО АДРЕНАЛИНОМ ЛИПОЛИЗА**

№ пп	Группы животных	НЭЖК сыворотки крови (ммоль/л)	
		Нестимулированный липолиз	Стимулированный липолиз
1	Интактные животные	290,5±23,0	–
2	Физиологический раствор + адреналин	–	687,1±20,8*
3	Резерпин	315,1±21,7	–
4	Резерпин + адреналин	–	495,2±21,0*#
5	Гемфиброзил	248,6±27,5	–
6	Гемфиброзил + адреналин	–	526,1±24,0*#

Примечание:

* – различия достоверны по сравнению с группой 1 при $p < 0,05$; # – различия достоверны по сравнению с группой 2 при $p < 0,05$; в каждой группе по 10 крыс.

Обозначения:

НЭЖК – неэстерифицированные жирные кислоты

менно наблюдается значительное уменьшение содержания липидов печени. Полученные нами данные указывают на потенциальную гиполлипидемическую активность резерпина.

С целью получения дополнительных данных о влиянии резерпина на показатели липидного обмена в условиях патологии были проведены эксперименты на крысах, морских свинках и кроликах в условиях экспериментальной ДЛП и Ат. О степени влияния резерпина на стимулированный и нестимулированный липолиз судили по количеству НЭЖК в крови крыс. Стимуляцию липолиза вызывали однократным введением адреналина и сравнивали с гемфиброзилом (гиполлипидемическое средство из группы фибратов). Гиполлипидемическое действие фибратов обусловлено способностью угнетать биосинтез ЛПОНП, включающих ТГ, которые, в свою очередь, расщепляются до НЭЖК [9]. Результаты наших исследований (табл. 2) показывают, что инъекции резерпина, также как и пероральное введение гемфиброзила достоверно снижают уровень НЭЖК в сыворотке крови у животных со стимулированным липолизом. В условиях нестимулированного липолиза применение резерпина не изменяет содержания НЭЖК. Полученные результаты свидетельствуют о гиполлипидемическом свойстве исследуемого препарата, которое сопоставимо с таковым у препарата сравнения гемфиброзила.

Для выяснения возможного влияния резерпина на изменение показателей липидного профиля крови – ХС и ТГ использовали липидстимулирующий скрининговый тест, в котором ДЛП вызывается введением детергента тритона WR–1339. Из таблицы 3 видно, что в сыворотке крови крыс, получавших детергент, достоверно повышается уровень общего ХС и ТГ – в 4 и 11 раз соответственно. Иная картина наблюдается в крови крыс, которым вводили резерпин. Так, уровень ХС в этой группе животных снижается в 1,5 раза, а ТГ – в 1,4 раза. Полученные данные указывают на гиполлипидемическое действие тестируемого препарата. Сравнительная оценка терапевтического эффекта резерпина и эталонного препарата

гемфиброзила по содержанию ХС и ТГ на модели тритоновой ДЛП не выявила между ними достоверных различий.

Моделирование ДЛП у морских свинок (введение через зонд ГХС диеты в течение 15-ти дней) вызывает увеличение содержания липидов как в сыворотке крови, так и в ткани печени. При этом холестеринновый коэффициент атерогенности, рассчитанный по формуле

$$\frac{\text{Общ ХС} - \text{ХС ЛПВП}}{\text{ХС ЛПВП}}$$

возрастает с 2,58 до 54,2 – величины, в 21 раз превышающей таковую у интактных животных (табл. 4). Концентрация липидов в сыворотке крови морских свинок, которым на фоне атерогенной диеты вводили резерпин, достоверно снижается. При этом содержание ХС и ТГ в печени уменьшается в 2 и 2,6 раза соответственно. Выявленное нами липидснижающее действие резерпина сопровождается двукратным увеличением содержания ХС антиатерогенных ЛПВП. Важно отметить, что такая способность повышать уровень ХС антиатерогенных ЛПВП обычно характерна для специфических гиполлипидемических средств из групп фибратов и статинов [5, 9]. О снижении степени тяжести ДЛП свидетельствует и уменьшение холестериннового коэффициента атерогенности (в 2,5 раза). Таким образом, полученные результаты на моделях ДЛП в опытах на крысах и морских свинках свидетельствуют о выраженном гиполлипидемическом действии резерпина, сопоставимом по эффекту с липидснижающими препаратами из группы фибратов – гемфиброзилом и безафибратом.

Влияние симпатолитика резерпина на атеросклеротический процесс изучали в опытах на кроликах с алиментарным Ат и ДЛП. Критериями оценки исследуемого патологического состояния служили содержание липидов в сыворотке крови, ткани печени и надпочечников. О степени повреждения стенки аорты судили по индексу атеросклеротического поражения, подсчитанного методом планиметрии. Результаты

Таблица 3

**ВЛИЯНИЕ РЕЗЕРПИНА НА УРОВЕНЬ ЛИПИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ
ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ТРИТОНОВОЙ ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИИ (ДЛП) У КРЫС**

№ пп	Группы животных	Липиды сыворотки крови (ммоль/л)	
		Общий ХС	ТГ
1	Интактные животные	1,31±0,04	0,59±0,04
2	Тритон WR-1339	5,43±0,17*	6,76±0,10*
3	Резерпин+ тритон WR-1339	3,56±0,11**	4,80±0,14**
4	Гемфибозил+ тритон WR-1339	4,20±0,25**	4,92±0,10**

Примечание:

* – различия достоверны по сравнению с группой 1 при $p < 0,05$; ** – различия достоверны по сравнению с группой 2 при $p < 0,05$; в каждой группе по 10 крыс.

Обозначения:

Общий ХС – общий холестерин; ТГ – триглицериды; ДЛП – дислипопротеинемия

Таблица 4

**ВЛИЯНИЕ РЕЗЕРПИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ,
ПЕЧЕНИ И ВЕЛИЧИНА ХОЛЕСТЕРИНОВОГО КОЭФФИЦИЕНТА АТЕРОГЕННОСТИ ПРИ АЛИМЕНТАРНОЙ
ДИСЛИПОПРОТЕИНЕМИИ (ДЛП) У МОРСКИХ СВИНОК**

№	Группы животных	Липиды сыворотки крови (ммоль/л)			Холестерино-вый коэффициент атерогенности	Липиды печени (мг/г)	
		Общий ХС	ХС ЛПВП	ТГ		$\frac{\text{общХС} - \text{ХСЛПВП}}{\text{ХСЛПВП}}$	Общий ХС
1	Интактные морские свинки	1,42±0,22	0,42±0,04	0,65±0,04	2,38	2,3±0,2	2,3±0,1
2	ГХС-диета	5,52±0,36*	0,10±0,02*	1,71±0,10*	54,2	10,9±0,5*	16,8±0,4*
3	Резерпин + ГХС-диета	4,24±0,38**	0,20±0,01**	1,10±0,08**	20,2	5,1±0,2**	6,4±0,3**
4	Безафибрат + ГХС-диета	4,50±0,27**	0,24±0,03**	1,20±0,14**	17,8	6,1±0,1**	8,6±0,9**

Примечание:

* – различия достоверны по сравнению с группой 1 при $p < 0,05$; ** – различия достоверны по сравнению с группой 2 при $p < 0,05$; в каждой группе по 8 морских свинок.

Обозначения:

ГХС – диета – гиперхолестеринемическая диета; Общий ХС – общий холестерин; ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ТГ – триглицериды; ДЛП – дислипопротеинемия

этих исследований приведены в таблице 5. Из таблицы видно, что кормление кроликов ГХС-диетой в течение 3-х месяцев вызывает ДЛП, которая отличается более значительной инфильтрацией печени липидами, чем ДЛП, развивающаяся у морских свинок, и сопровождается выраженным атерогенезом стенки аорты (2 группа). Животные этой группы характеризуются увеличением содержания ТГ (в крови и печени), общего ХС (в крови, печени и надпочечниках) и резким снижением уровня ХС ЛПВП (в крови). В результате такого соотношения липидных показателей величина холестеринного коэффициента атерогенности более чем в 240 раз превосходит таковую интактных кроликов. Содержание общего ХС в аорте увеличивается в 24 раза, а индекс атеросклеротического поражения аорты в 50 раз.

При терапии кроликов с экспериментальным алиментарным Ат и ДЛП симпатолитиком резерпином содержание ТГ, общего ХС (в крови и печени) достоверно снижается, что свидетельствует в пользу гипо-

липидемического действия тестируемого препарата. В результате снижения уровня общего ХС и тенденции к повышению ХС ЛПВП холестеринный коэффициент атерогенности снижается в 1,7 раза. Кроме того, в надпочечниках концентрация общего ХС в 1,4 раза ниже чем у животных, которые на фоне алиментарного Ат и ДЛП не получали резерпин. Известно, что ХС является предшественником в синтезе КА. Возможно поэтому, уменьшение содержания ХС в ткани надпочечников может быть одной из причин, влияющих на истощение запасов КА, способствуя тем самым снижению гиперактивности симпатической нервной системы. В аортах опытных кроликов содержание общего ХС уменьшается в 5 раз (табл. 5). Снижение уровня общего ХС, наблюдаемого нами в аортах экспериментальных животных (группа 3), возможно, объясняется нарушением проницаемости артериальной стенки, препятствующей проникновению атерогенных ЛПНП. Следует отметить, что в аортах кроликов, получавших резерпин, массивные многослой-

ВЛИЯНИЕ РЕЗЕРПИНА НА ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ, ПЕЧЕНИ, НАДПОЧЕЧНИКАХ, АОРТЕ И ВЕЛИЧИНА ХОЛЕСТЕРИНОВОГО КОЭФФИЦИЕНТА АТЕРОГЕННОСТИ ПРИ АЛИМЕНТАРНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ (АТ) У КРОЛИКОВ

Показатели	Органы	Группы животных		
		Интактные 1	ГХС-диета 2	ГХС-диета + резерпин 3
Общий ХС	кровь (ммоль/л)	1,45±0,10	41,9±1,0 [*]	33,1±1,5 ^{*#}
	печень (мг/г)	5,7±0,8	34,8±2,6 [*]	22,5±3,7 ^{*#}
	надпочечники (мг/г)	67,3±4,5	213,9±13,7 [*]	152,1±20,8 ^{*#}
	аорта (мг/г)	2,03±0,51	48,6±1,7	10,2±1,9 ^{*#}
ХС ЛПВП	кровь (ммоль/л)	0,50±0,05	0,09±0,03 [*]	0,12±0,02
Холестериновый коэффициент атерогенности	$\frac{\text{общХС} - \text{ХС ЛПВП}}{\text{ХС ЛПВП}}$	1,9	464,4	274,8
ТГ	кровь (ммоль/л)	0,69±0,05	7,9±0,3 [*]	4,8±0,8 ^{*#}
	печень (мг/г)	4,8±1,2	27,8±2,3 [*]	20,3±1,9 ^{*#}
Индекс атеросклеротического поражения	аорта (%)	0	51,2±4,4 [*]	16,8±5,2 ^{*#}

Примечание:

^{*} – различия достоверны по сравнению с группой 1 при $p < 0,05$; [#] – различия достоверны по сравнению с группой 2 при $p < 0,05$; в каждой группе по 10 кроликов.

Обозначения:

Ат – атеросклероз; ГХС – диета – гиперхолестеринемическая диета; Общий ХС – общий холестерин; ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ТГ – триглицериды;

ные повреждения отсутствуют. При этом индекс атеросклеротического поражения аорты в 3 раза ниже чем у животных, не получающих лечения.

Таким образом, в опытах на крысах, морских свинках и кроликах установлено, что внутрибрюшинное введение резерпина (в дозе 0,1 мг/кг) оказывает гипополипидемическое действие, проявляющееся в угнетении степени развития ДЛП, уменьшении инфильтрации печени липидами, снижении риска развития атеросклеротических повреждений. В условиях моделированного алиментарного Ат у кроликов нам удалось выявить не только гипополипидемическую активность, но и антиатерогенное действие. Липидснижающее свойство резерпина, вероятно, обусловлено его способностью истощать депо норадреналина, который усугубляет течение дислипидемии, повышая содержание ХС и атерогенных ЛП в крови, и ускоряет развитие атеросклероза.

Гипополипидемическое и антиатеросклеротическое действие резерпина, выявленное нами в эксперименте, может иметь значение когда пациентам с АГ показано назначение комплексных препаратов, содержащих резерпин.

Литература

1. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. СПб.: Питер, 1999.
2. Липовецкий Б.М. Эпидемиология атеросклероза и артериальной гипертензии. – СПб.: Наука, 2004.
3. Julius S., Majahalme S. The changing face of sympathetic overactivity in hypertension. *Ann. Med.* 2000; 32 (5): 365–370.
4. Баранова Е.И., Большакова О.О. Антигипертензивные препараты симпатолитического действия. *Артериальная гипертензия* 2006; 12 (2): 125–130.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – 15-е изд., перераб., испр. доп. – М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2005; 453–455.

6. Фомин И.В., Мареев В.Ю., Щербинина Е.В. и др. Анализ эффективности лекарственной терапии у больных артериальной гипертензией в Нижегородской области. *Кардиология* 2000; 8: 34–36.

7. ВНОК. Профилактика, диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (второй пересмотр). – М., 2004.

8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (Под ред. Фисенко В.П.). М.: Ремедиум, 2000, 224–227.

9. West K.Z., Fernandez M.Z. Guinea pigs as models to study the hypocholesterolemic effects of drugs. *Cardiovascular Drug Rev.* 2004; 22 (1): 55–70.

10. Sapronov N.S., Khnychenko L.K., Okunevich I.V. and Gavrovskaya L.K. Potential antiatherosclerotic drugs: novel N-substituted taurinamide derivatives. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2006; (Book Taurine 6, Ed. Oja S.S., Saransaari P.), 583: 515–521.

11. Окуневич И.В., Рыженков В.Е. Антиатеросклеротическое действие милдроната в эксперименте. *Пат. физиол. эксперим. тер.* 2002; 2: 24–27.