

# ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ БЕТУЛИНА ПРИ ГИПЕРЛИПИДЕМИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТОЙ У КРЫС

Шляхтун А.Г.<sup>1</sup>, Бубен А.Л.<sup>2</sup>, Сурба О.К.<sup>3</sup>, Самойлик А.А.<sup>1</sup>, Мороз В.Л.<sup>1</sup>, Коваленя Т.А.<sup>4</sup>,  
Синица И.В.<sup>4</sup>, Зверинский И.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси»;

<sup>2</sup>Гродненский государственный медицинский университет;

<sup>3</sup>УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Гродно»;

<sup>4</sup>УО «Гродненский государственный университет им. Я. Купалы»

**Введение.** Проблема профилактики и коррекции гиперлипидемических состояний интенсивно изучается в последние десятилетия в связи с тем, что повышенный уровень липидов является ведущим фактором риска развития сахарного диабета, холестаза, атеросклероза, ишемической болезни сердца и мозга, гипертонии. Липидо- и холестерин-снижающая терапия, в которой используется широкий спектр средств – статины, фибраты, ингибиторы абсорбции холестерина, препараты никотиновой кислоты, секвестранты желчных кислот и др., – до сих пор рассматривается как основной способ фармакологической коррекции. Вместе с тем регуляция уровней липидов и холестерина крови с помощью известных лекарственных препаратов имеет целый ряд противопоказаний и дает комплекс побочных реакций, ограничивающих их применение. Наряду с широко применяемыми лекарственными препаратами в последнее время внимание исследователей привлекают вещества природного происхождения, обладающие гиполипидемическим действием, и в первую очередь вещества терпеноидной структуры. Так, гиполипидемический эффект показан для сесквитерпенов артишока (*Cynarascolymus L.*) – цинаропикрина, агуерина В и гроссгемина [1], терпеноида имбиря (*Costusspeciosus Koen.*) [2]. Механизмы гиполипидемического действия терпеноидов до конца не выяснены и требуют дальнейшего изучения.

Бетулин – природный пентациклический тритерпеноид ряда лупана – проявляет широкий спектр биологической активности, в том числе антиоксидантную, противоопухолевую, противовирусную, и другие. Достаточно полно изучен токсикологический профиль бетулина, так, например, показано, что он не проявляет эмбриотоксического, тератогенного, кожнораздражающего, кумулятивного, сенсibiliзирующего и аллергенного действия в широком диапазоне доз [3].

**Целью** настоящего исследования было исследование и оценка влияния бетулина на ряд биохимических показателей крови при моделировании гиперлипидемии у крыс.

**Материалы и методы.** Использованные в работе реактивы имели квалификацию не ниже «хч», растворители подвергали дополнительной очистке. Все растворы готовили с использованием деионизированной воды, полученной на системе DirectQ3 (Millipore, США).

Бетулин получали путем экстракции *n*-бутанолом из коры *Betulapendula Roth.* с последующей перекристаллизацией. Чистоту продукта контролировали методом ТСХ (Silufol, СНСl<sub>3</sub>:МеОН 20:1, проявление парами I<sub>2</sub>).

В эксперименте использовали крыс-самцов линии Wistar массой 160-180 г. Гиперлипидемию индуцировали содержанием животных на полусинтетической высокожировой диете *adlibitum* (ВЖД, 32 % калорий) в течение 45 суток [4]. Экспериментальные группы формировали методом рандомизации по массе тела. Сформировали 4 группы: 1-я группа - Контроль, получали стандартный рацион вивария; 2-я - ВЖД + в/ж воду по 1мл/кг, начиная с 32 дня; 3-я – стандартный рацион вивария + в/ж суспензия бетулина в дозе 100 мг/кг по 1мл/кг, начиная с 32 дня; 4-я – ВЖД – 45 дней + в/ж суспензия бетулина по 100 мг/кг в объеме 1мл/кг, начиная с 32 дня от начала эксперимента. Каждая группа включала 8 животных.

По окончании эксперимента после 12-часового голодания животных эвтаназировали под эфирным наркозом. Биохимические исследования крови выполнены на анализаторе BS 200 E (Mindray, КНР) с использованием наборов реактивов DiaSys (Diagnostic Systems GmbH, ФРГ). Для оценки иммунного статуса в сыворотке крови определяли гемолитическую активность комплемента (CH50) и количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

При проведении экспериментов руководствовались требованиями и методическими рекомендациями, установленными Хельсинкской Декларацией по гуманному обращению с животными.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism v.5.0. Для выявления значимости отличий между группами использовали ANOVA с последующим тестом Даннета. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Данные в представлении в виде  $M \pm m$ , где  $M$  - среднее значение,  $m$  - стандартная ошибка среднего.

**Результаты и обсуждение.** Показано, что в сыворотке крови животных получавших ВЖД, значительно повышались уровни холестерина, липопротеинов высокой (ХС ЛПВП) и низкой (ХС ЛПНП) плотности, триглицеридов, общего белка и мочевой кислоты по сравнению с контрольной группой животных. Увеличение концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови косвенно может свидетельствовать о компенсаторной гиперинсулинемии, так как известно, что при эугликемической гиперинсулинемии наблюдается снижение клиренса мочевой кислоты в проксимальных канальцах почек и развитие выраженной гиперурикемии.

Введение бетулина в дозе 100 мг/кг/сут на протяжении 12 дней животным с гиперлипидемией нормализовало показатели липидного и углеводного обмена, в частности, отмечено, что бетулин снижал уровни ХС ЛПНП и триглицеридов в сыворотке крови до значений ниже, чем в контрольной группе животных (Табл. 1).

**Таблица 1.** Биохимические показатели сыворотки крови крыс при моделировании гиперлипидемии и коррекции бетулином в дозе 100 мг/кг/сут ( $n=8$ )

Группы Показатели	Контроль	ВЖД	Бетулин	ВЖД+Бетулин
Общий белок, (г/л)	45,88±4,85	63,57±5,95 <sup>a</sup>	44,00±5,13	45,00±3,84
Альбумин, (г/л)	19,00±2,04	26,57±1,90 <sup>a</sup>	20,60±2,16	19,80±1,88 <sup>b</sup>
Холестерин общий (ммоль/л)	0,69±0,09	1,60±0,12 <sup>a</sup>	1,12±0,09 <sup>ab</sup>	0,65±0,12 <sup>b</sup>
ХС ЛПВП (ммоль/л)	0,20±0,03	0,31±0,06 <sup>a</sup>	0,38±0,06 <sup>a</sup>	0,21±0,04
ХС ЛПНП (ммоль/л)	7,13±0,42	10,71±1,02 <sup>a</sup>	6,98±1,52 <sup>b</sup>	5,80±0,37 <sup>ab</sup>
Триглицериды (ммоль/л)	0,18±0,03	0,36±0,07 <sup>a</sup>	0,18±0,06 <sup>b</sup>	0,12±0,03 <sup>ab</sup>
Глюкоза (ммоль/л)	2,27±0,27	5,06±0,24 <sup>a</sup>	2,68±0,29 <sup>b</sup>	2,90±0,34 <sup>b</sup>
Мочевина (ммоль/л)	4,17±0,22	4,75±0,28	4,46±0,53	5,05±0,55
Мочевая кислота (мкмоль/л)	79,00±10,98	145,40±6,45 <sup>a</sup>	78,80±6,26 <sup>b</sup>	84,40±11,10 <sup>b</sup>

Примечание (здесь и далее): a –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой; b –  $p < 0,05$  по сравнению с МС

Интересными представляются биохимические показатели животных из группы сравнения, находившиеся на стандартном рационе вивария и получавшие в течение 2 недель бетулин (табл. 1). Показано, что введение бетулина сопровождалось статистически значимым увеличением уровней общего холестерина и ХС ЛПВП, что вероятно обусловлено структурным сходством молекул бетулина и холестерина.

В группе животных с гиперлипидемией без лечения со стороны иммунной системы отмечается статистически значимое увеличение количества ЦИК и активности комплемента в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой животных, что может указывать на развитие воспалительного процесса. Введение бетулина животным с гиперлипидемией приводило к нормализации уровней ЦИК и активности комплемента.

У животных, как находившихся на стандартном рационе вивария, так и в группе с ВЖД, получавших в течение 2 недель бетулин, отмечено увеличение фагоцитарной активности нейтрофилов в среднем на 30-35 % (Табл. 2).

**Таблица 2.** Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов, гемолитическая активность комплемента и количество циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови крыс при гиперлипидемии и коррекции бетулином в дозе 100 мг/кг/сут на протяжении 12 сут (n=8)

Показатели \ Группы	Контроль	ВЖД	Бетулин	ВЖД + Бетулин
Фагоцитарный индекс, %	51,29±3,54	51,10±2,98	72,20±2,15 <sup>ab</sup>	75,10±2,99 <sup>ab</sup>
Фагоцитарное число	10,87±1,15	12,50±1,17	13,66±0,38 <sup>ab</sup>	15,00±0,68 <sup>ab</sup>
СН50, у. е.	69,19±2,39	77,24±2,09 <sup>a</sup>	73,15±2,49	71,81±1,36 <sup>b</sup>
ЦИК, у. е.	19,13±0,93	49,38±3,07 <sup>a</sup>	20,30±2,12 <sup>b</sup>	22,20±1,48 <sup>b</sup>

**Заключение.** Полученные данные показывают, что бетулин нормализует основные показатели липидного и углеводного обменов, обладает антиатерогенным и иммуномодулирующим действием при гиперлипидемии у крыс. Полученные результаты могут быть использованы при разработке безопасного, хорошо переносимого препарата для терапии заболеваний, сопровождающихся развитием гиперлипидемического состояния.

#### Литература

1. Antidiabetic and antilipidemic effect of eremanthin from *Costusspeciosus* (Koen.) Sm., in STZ-induced diabetic rats / J. Eliza [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* – 2009. – Vol. 182, № 1. – P. 67–72.
2. Phenolic acids suppress adipocyte lypolysis via activation of the nicotinic acid receptor GRP109A (HM74a/PUMA-G) / N. Ren [et al.] // *J. Lip. Res.* – 2011. – Vol. 50, № 5. – P. 908–914.
3. Терпеноиды ряда лупана – биологическая активность и фармакологические перспективы. Производные ряда Лупана / Т.Г. Толстикова [и др.] // *Биоорганическая химия.* – 2006. – Т. 32, № 1. – С. 42–55.
4. Gorden, P. Syndromic insulin resistance: models for the therapeutic basis of the metabolic syndrome and other targets of insulin resistance / P. Gorden, E.S. Zadeh, E. Cochran, R.J. Brown // *Endocr. Pract.* – 2012. – Vol. 18, No. 5. – P. 763-771.

#### HYPOLIPIDEMIC EFFECT OF BETULIN IN MODEL OF HYPERLIPIDEMIA INDUCED BY HIGH FAT DIET IN RATS

Shlyahatun A.H.<sup>1</sup>, Buben A.L.<sup>2</sup>, Surba O.K.<sup>3</sup>, Samoylik A.A.<sup>1</sup>, Moroz V.L.<sup>1</sup>, Kovalenya T.A.<sup>4</sup>,  
Sinitsa I.V.<sup>4</sup>, Zverinsky I.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of biochemistry of biologically active substances of the National Academy of Sciences of Belarus; <sup>2</sup> Grodno State Medical University; <sup>3</sup> Grodno Clinical Emergency Hospital; <sup>4</sup> Grodno State University

The effects of betulin a natural derived pentacyclic triterpenoid from birch bark on a biochemical blood parameters were investigated in a model of hyperlipidemia in rats. The present study demonstrates that a betulin ( $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$ ) can be effectively used to treat hyperlipidemia manifestations, including associated disturbances of lipid and carbohydrate metabolism and also immune system changes.