

Холестерин липопротеидов в плазме крови крысы при нарушении кругооборота желчи

Печень является основным органом, катаболизирующим холестерин превращением его в желчные кислоты, которые выводятся из организма с фекалиями. Существует тесная взаимосвязь биосинтеза желчных кислот и синтеза холестерина в печени [5, 10]. Биосинтез липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и их превращение в липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) и липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) также в основном происходят в печени [2]. Известно, что уменьшение поступления желчных кислот в печень из кишечника в результате выведения желчного протока или применения ионообменных смол стимулирует биосинтез желчных кислот [10], а увеличение их поступления с кормом оказывает противоположный эффект [11]. Воздействие на энтерогепатическую циркуляцию желчных кислот может изменять обмен холестерина и его транспорт в плазме крови в составе липопротеидов. Последние относятся к различным классам и обладают атерогенным или антиатерогенным свойствами [3].

Общепринятой экспериментальной моделью стимуляции желчеобразования или его торможения являются выведение общего желчного протока или его перевязка у лабораторных крыс [10, 12]. Цель наших исследований — изучить изменения содержания холестерина липопротеидов различной плотности в плазме крови у крыс в ответ на задержку оттока желчи из печени или выведение желчи из организма.

Методика

У беспородных белых крыс (две группы животных, по пять особей в каждой) массой 250—300 г под гексеналовым наркозом (100 мг/кг подкожно), перевязывали или выводили желчный проток, для чего в желчный проток на его проксимальном участке вставляли полиэтиленовую трубку (фирма «Intermedic Adams»). Оперированных крыс помещали в индивидуальные ограничительные клетки со свободным доступом к воде. Оттекающую желчь собирали через выведенную трубку в пробирку, помещенную в сосуд со льдом. У крыс под наркозом до операции и через 24 ч после нее брали по 0,2 мл цельной крови из хвостовой вены и смешивали с равным объемом 0,2 % ЭДТА, растворенного в физиологическом растворе. Определение общего холестерина (ХС) проводили разработанным нами микрометодом [6]. Для определения ХС-ЛПВП к 0,1 мл разведенной плазмы добавляли 0,05 мл раствора гепарина (800 Ед/мл) и 0,05 мл 0,2 моль/л раствора $MnCl_2$, пробирку с раствором выдерживали в течение 1 ч на холоду (4 °C) и затем центрифугировали 10 мин при 3 000 мин⁻¹ в рефрижераторной центрифуге, после чего 0,1 мл супернатанта брали для определения общего ХС, указанным выше методом. Концентрацию ХС, ХС суммарной фракции ЛПНП и ЛПОНП определяли по разности между значениями концентрации общего ХС и концентрации ХС-ЛПВП. Поскольку определение проводили в пробах плазмы крови, взятой у каждой крысы до и после операции для оценки результатов был использован метод прямых разностей [4]. Достоверность различий между средними значениями до и после операции устанавливали с помощью критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Результаты определения общего ХС и ХС липопротеидов до и после операции по поводу перевязки и выведения общего желчного протока представлены в таблице. У крыс через 24 ч после перевязки существенно снизился гематокрит и резко повысилась концентрация общего ХС ($p < 0,01$). При этом значительно повысилась концентрация ХС суммарной фракции ЛПНП и ЛПОНП ($p < 0,01$), а концентрация ХС-ЛПВП существенно не изменилась ($p > 0,05$). Установлено, что у

Гематокрит и концентрация холестерина липопротеидов в плазме крови крыс* до и после операции по поводу перевязки и выведению общего желчного протока

Условие опыта	Гематокрит		Общий ХС, мг/100 мл		ХС-ЛПВП, мг/100 мл		ХС-(ЛПНП и ЛПОНП), мг/100 мл	
	До операции	После операции	До операции	После операции	До операции	После операции	До операции	После операции
Перевязка протока:								
М	0,46	0,39	52,8	135,2	34,0	32,9	18,9	102,2
M _d	—0,07		82,3		—1,04		84,4	
m _d	0,017		10,67		0,50		9,64	
P	<0,02		<0,01		>0,05		<0,01	
Выведение протока:								
М	0,42	0,47	61,3	81,7	40,6	29,9	20,7	51,7
M _d	0,05		20,3		—10,7		31,0	
m _d	0,0028		4,83		5,57		1,52	
P	<0,001		<0,02		>0,05		<0,001	

* Число животных в опыте составляло 5.

крыс после суточного выведения через фистулу желчи повышался гематокрит ($P < 0,02$) и несколько повышалось содержание холестерина ($P < 0,02$), в основном за счет ХС-ЛПНП и ЛПОНП. При этом концентрация ХС-ЛПВП оставалась без существенных изменений, но с проявлением тенденции к снижению ($0,1 > P > 0,05$).

Известно, что одним из основных путей утилизации ХС является его превращение в желчные кислоты [1, 12]. Синтез желчных кислот происходит в эндоплазматическом ретикулуме, где определяющей скорости этого синтеза является активность холестерин-7- α -гидроксилазы [9]. Поскольку желчные кислоты постоянно находятся в enteroгепатической циркуляции, количество синтезируемых гепатоцитами желчных кислот зависит от их выведения с фекалиями. Наложение фистулы на желчный проток или введение холестирамина, анионообменной смолы, связывающей в кишечнике желчные кислоты, вызывает повышение активности 7- α -гидроксилазы [8, 9]. Холестирамин, как известно, применяют для уменьшения содержания ХС в плазме крови при лечении атеросклероза [3].

В опытах с выведением общего желчного протока можно было ожидать снижения содержания ХС липопротеидов. Однако в наших исследованиях концентрация общего ХС и ХС суммарной фракции ЛПНП и ЛПОНП повышалась. Судя по увеличению гематокритного числа после суточного выведения желчи из организма, повышение содержания ХС могло быть обусловлено сгущением плазмы крови. Однако оно не является достаточным для объяснения более чем двукратного повышения содержания ХС суммарной фракции ЛПНП и ЛПОНП. Следовательно, повышение концентрации ХС могло быть результатом усиления скорости биосинтеза желчных кислот или торможения использования в печени ХС этих липопротеидных фракций для продукции желчных кислот. Необходимо учесть, что синтез желчных кислот требует большого количества АТФ и НАДФ·Н, продукция которых резко снижается в условиях голодания животных и суточного выведения желчи. Поэтому более вероятным является снижение использования ХС липопротеидов для биосинтеза желчных кислот.

В наших опытах установлено, что остановка enteroгепатической циркуляции желчных кислот и ХС с помощью перевязки желчного протока приводила к резкому повышению содержания ХС во фракции ЛПНП и ЛПОНП, что подтверждают данные, полученные другими авторами [7, 10]. Наряду с этим увеличивалось отношение ХС-ЛПНП и ЛПОНП к ХС-ЛПВП (или атерогенный индекс) с 0,56 до 3,11. Наблюдаемый эффект можно объяснить торможением катаболизма ХС липопротеидов плазмы крови, транспортируемых из периферических

тканей в печень. Снижение гематокритного числа связано с гемолитическим действием повышенной концентрации желчных кислот в печени и крови у крыс с задержкой оттока желчи.

Таким образом, установлено, что, несмотря на различные возможные механизмы действия задержки желчи в организме и ее выведения в течение суток, эти нарушения кругооборота желчи приводят к повышению концентрации ХС суммарной фракции ЛПНП и ЛПОНП, а также индекса атерогенности.

Выводы

1. Через 24 ч после перевязки общего желчного протока у крыс наблюдали выраженную гиперхолестеринемию, значительное повышение содержания ХС во фракции ЛПНП и ЛПОНП; содержание ХС-ЛПВП в плазме крови при этом существенно не изменялось.

2. Через 24 ч после выведения общего желчного протока у крыс наблюдали небольшое увеличение концентрации общего ХС и ХС в суммарной фракции ЛПНП и ЛПОНП; содержание ХС-ЛПВП при этом имело тенденцию к снижению.

3. Индекс атерогенности у крыс повышался после перевязки и после выведения общего желчного протока.

LIPOPROTEIN CHOLESTEROL IN THE RAT PLASMA WITH DISTURBANCE OF BILE RECIRCULATION

L. K. Finagin, I. G. Litovka

The experiments were carried out on two groups of rats with obstruction or cannulation of bile duct. Plasma was obtained from the tail venous blood before and 24 hours after operation. The bile duct obstruction caused hypercholesterolemia and considerable increase in the cholesterol content of low-density and very low-density lipoprotein (cholesterol bound to LDL and VLDL). Cannulation of total bile duct slightly increased CH—LDL+VLDL. The change in concentration of high-density lipoprotein cholesterol was insignificant in both models of bile disturbance while index of atherogenesis increased.

Institute of Nutrition Hygiene,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Громашевская Л. Л. Желчные кислоты — биосинтез и обмен в организме, метаболическая роль, значение в медицине // Биохимия животных и человека. — 1979. — Вып. 3. — С. 56—72.
2. Климов А. Н. Липопротеиды плазмы крови, их функция и метаболизм // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ / Под ред. С. Е. Северина. — М., 1981. — С. 45—75.
3. Климов А. Н., Никульчева Н. Г. Липопротеиды, дислипидопроteinемии и атеросклероз. — Л.: Медицина, 1984. — 168 с.
4. Кокунин В. П. Статистическая обработка данных при малом числе опытов // Укр. биохим. журн. — 1975. — 47, № 6. — С. 776—791.
5. Лопухин Ю. М., Арчаков А. И., Владимиров Ю. А., Коган Э. М. Холестериноз. — М.: Медицина, 1983. — 352 с.
6. Финагин Л. К. Обмен холестерина и его регуляция. — Киев: Вища школа, 1980.
7. Asskali F., Eichholz A., Forster H. Untersuchungen bei verschiedenen Modellen zur Hypercholesterinämie // Ernähr-Umschau. — 1984. — 31, N 8. — S. 245.
8. Danielsson H., Einarsson K. Formation and metabolism of bile acids // Biol. Bas. Med. — London, 1969. — 5. — P. 279—315.
9. Myant N. B., Mitropoulos K. A. Cholesterol 7 α -hydroxylase // J. Lipid Res. — 1977. — 18, N 1. — P. 135—153.
10. Myant N. B. The biology cholesterol and related steroids. — London: William Hemann Med. Books Ltd, 1981. — 889 P.
11. Shefer S., Hauser S., Bekersky I., Mosbach E. H. Biochemical site of regulation of bile acid biosynthesis in the rat // J. Lipid Res. — 1970. — 11, N 5. — P. 404—411.
12. Van Belle H. Cholesterol, bile acids and atherosclerosis. — Amsterdam: North Hol. Publish. comp. — 1965. — 169 P.

Киев, ин-т гигиены питания
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил в редакцию 10.07.88