

А.А. Торопова <sup>1</sup>, Я.Г. Разуваева <sup>1, 3</sup>, С.В. Лемза <sup>1</sup>, С.М. Николаев <sup>1, 2, 3</sup>, Н.В. Верлан <sup>2</sup>,  
А.Ю. Ерентуева <sup>3</sup>

## ЭНЕРГОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНОЙ КОМПОЗИЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИСЛИПОПРОТЕИДЕМИИ

<sup>1</sup> ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, Улан-Удэ, Россия

<sup>2</sup> ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования»  
Минздрава России, Иркутск, Россия

<sup>3</sup> ГБОУ ДПО Бурятский государственный университет, Улан-Удэ, Россия

В работе исследовано влияние растительной композиции на энергопродукцию митохондрий печени при экспериментальной дислипидемии. Эксперименты выполнены на 42 крысах-самцах линии Wistar. Установлено, что курсовое введение растительного средства повышает коэффициенты стимуляции дыхания и дыхательного контроля в среднем на 17 % ( $p < 0,05$ ); увеличивает активность пируваткиназы и  $H^+$ -АТФазы в 1,9 и 1,2 раза соответственно; повышает содержание АТФ на 29 % ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** дислипидемия, печень, митохондрия, энергетический метаболизм, фосфорилирование, окислительный стресс, аденозинтрифосфат, пируваткиназа, гиполипидемическая растительная композиция

## ENERGY-PROTECTIVE FUNCTION OF PLANT COMPOSITION IN THE EXPERIMENTAL DYSLIPIDEMIA

А.А. Toropova <sup>1</sup>, Y.G. Razuvaeva <sup>1, 2</sup>, S.V. Lemza <sup>1</sup>, S.M. Nikolaev <sup>1, 2, 3</sup>, N.V. Verlan <sup>2</sup>,  
A.Yu. Erentueva <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia

<sup>2</sup> Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk, Russia

<sup>3</sup> Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

The influence of the plant composition on the functional state of rat hepatic mitochondria and biochemical indices of energy metabolism was studied. Experiments were carried out on 42 white Wistar rats. The application of the plant composition increases contingency between oxidation and phosphorylation, as well as coefficients of respiratory stimulation and respiratory control by 17 % ( $p < 0.05$ ) and 15 % ( $p < 0.05$ ) respectively as compared to the control group. The tested herbal medicine increases the ATP content by 29 % ( $p < 0.05$ ) and improves the activity of pyruvate kinase and  $H^+$ -ATPase by 1.9 and 1.2 times respectively which indicates a partial restoration of energy metabolism in hepatocytes. The results of the research allow us to recommend the plant composition for its further study as a potential prospective hypolipidemic remedy for non-alcoholic fatty liver disease.

**Key words:** dyslipidemia, liver, mitochondrion, energy metabolism, phosphorylation, oxidative stress, adenylypyrophosphate, pyruvate kinase, hypolipidemic plant composition

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время хронические заболевания гепатобилиарной системы являются предметом пристального внимания, так как занимают одно из ведущих мест среди причин инвалидизации и смертности населения. Среди них за последние десятилетия широкое распространение получила неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП), поражающая 25–30 % от общей популяции населения [10]. НАЖБП включает в себя спектр таких патологических изменений в печени, как: накопление жира в гепатоцитах (стеатоз) с последующей их воспалительной инфильтрацией (стеатогепатит); развитие цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Накопление триглицеридов при НАЖБП повышает чувствительность печени к повреждающему действию воспалительных цитокинов, лимфокинов, вызывает развитие окислительного стресса с последующим разобщением процессов окисления и фосфорилирования в гепатоцитах.

На сегодняшний день современная медицина располагает значительным количеством синтетических лекарственных средств, применяемых при жировых

поражениях печени. Однако их применение не всегда дает желаемый результат и довольно часто вызывает ряд побочных эффектов. В связи с этим весьма важной проблемой является поиск новых гиполипидемических лекарственных средств. Особый интерес представляют средства растительного происхождения, содержащие комплекс биологически активных веществ, обладающие высоким антиоксидантным потенциалом, широким спектром действия и низкой токсичностью [6].

В соответствии с вышеизложенным, в Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН была разработана гиполипидемическая растительная композиция, в состав которой вошли экстракты из: плодов *Rosa* L. (20 %), корней *Glycyrrhiza glabra* L. (15 %), корневищ *Acorus calamus* L. (15 %), корнеплодов *Beta vulgaris* L. (11 %), плодов *Crataegus sanguinea* Pall. (10 %), плодов *Malus baccata* (L.) Borkh. (10 %), листьев *Orthosiphon stamineus* Benth. (10 %), семян *Linum usitatissimum* L. (3 %), корневищ *Zingiber officinale* Roscoe (3 %), плодов *Elettaria cardamomum* (L.) Maton (3 %).

Ранее авторами было показано, что исследуемая растительная композиция оказывает гипохолестери-

немическое, гиполипидемическое и антиоксидантное действия в условиях экспериментальной дислипидемии [1, 2, 8].

**ЦЕЛЬ РАБОТЫ**

Оценить действие многокомпонентной растительной композиции на систему митохондриальной энергопродукции при экспериментальной дислипидемии.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования выполнены на 42 половозрелых крысах-самцах линии Wistar с исходной массой тела 180–200 г. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Перед началом экспериментов животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, распределялись на группы с учетом пола, возраста, массы и принципа рандомизации. Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986).

Животные были разделены на 3 группы: интактная, контрольная и опытная. Дислипидемию (ДЛП) воспроизводили путем ежедневного введения *per os* животным контрольной и опытной групп в течение 42 дней атерогенной смеси в дозе 1 мл/100 г. Атерогенная смесь включала в себя следующие компоненты: 2%-й холестерин, 15%-й свиной жир, 10%-й яичный желток [11]. С 28-го дня от момента введения атерогенной смеси, животные опытной группы получали гиполипидемическое фитосредство ежедневно в дозе 50 мг/кг в течение 14 дней. Животные контрольной и интактной групп получали эквивалентное количество воды, очищенной по аналогичной схеме. Животных выводили из эксперимента под легким эфирным наркозом и выделяли митохондрии печени по методу А. Панова с соавт. [12].

Функциональное состояние митохондрий гепатоцитов исследовали полярографическим методом («Эксперт-001 МТХ» Эконикс-Эксперт, Россия) по

скорости потребления кислорода в метаболических состояниях по Б. Чансу. Рассчитывали скорость потребления кислорода до ( $V_{4_0}$ ), во время ( $V_{3_1}$ ) и после ( $V_{4_1}$ ) цикла фосфорилирования добавленного аденозиндифосфата (АДФ) (150 мкМ). Для оценки энергетического статуса изолированных митохондрий рассчитывали коэффициенты стимуляции дыхания (АДФ-СД, отношение  $V_{3_1}$  к  $V_{4_0}$ ) и дыхательного контроля (ДК, отношение  $V_{3_1}$  к  $V_{4_1}$ ). В работе использована комбинация субстратов дыхания – глутамат (10 мМ) : малат (2 мМ) : сукцинат (5 мМ). Скорость дыхания выражали в нанограмм-атом  $O_2$ /мин/мг белка митохондрий. Количественное содержание белка определяли методом Брэдфорда. Обработку данных осуществляли с помощью программы Origin 8.5.

Содержание внутриклеточного АТФ определяли в гомогенате печени крыс по методу, описанному в «Методы биохимических исследований: липидный и энергетический обмен» [4], активность пируваткиназы (ПК) и  $H^+$ -АТФ-азы в митохондриальной фракции по методам, описанным в «Практикуме по биохимии» [7].

Принадлежность исходных данных к выборке из нормальной генеральной совокупности была подтверждена методом Шапиро – Уилка. В дальнейшем статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета программ «Bio-stat-2006» с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

В эксперименте показано, что введение атерогенной смеси животным контрольной группы в течение 42 дней вызывает развитие окислительного стресса с последующим нарушением сопряженности процессов окисления и фосфорилирования, угнетением интенсивности энергетического метаболизма в гепатоцитах (табл. 1). Это выражается в уменьшении скорости активного фосфорилирования ( $V_{3_1}$ ) на 25 %, снижении коэффициентов СД и ДК на 26 и 29 % соответственно, по сравнению с данными интактной группы животных. Полученные данные характеризуют развитие митохондриальной дисфункции, которая характеризуется прежде всего нарушением

**Таблица 1**  
**Влияние растительной композиции на показатели функционального состояния митохондрий печени при экспериментальной дислипидемии**

Параметры дыхания митохондрий	Группа животных		
	Интактная (n = 6)	Контрольная (n = 6)	Опытная (n = 6)
$V_{4_0}$	79,63 ± 6,87	68,16 ± 4,80	79,24 ± 5,73
$V_{3_1}$	267,90 ± 23,03	201,21 ± 12,53	254,02 ± 21,16
$V_{4_1}$	185,22 ± 8,99	97,61 ± 9,10	147,51 ± 12,93
СД	3,71 ± 0,29	2,75 ± 0,26*	3,22 ± 0,02**
ДК	2,02 ± 0,19	1,44 ± 0,06*	1,71 ± 0,11**

**Примечание.** Скорости дыхания выражены в нанограмм-атом  $O_2$ /мин/мг белка митохондрий; \* – различия статистически значимы, по сравнению с интактной группой, при  $p < 0,05$ ; \*\* – различия статистически значимы, по сравнению с контрольной группой, при  $p < 0,05$ ; n – количество животных в группе.

Влияние растительной композиции на показатели энергетического метаболизма в печени белых крыс при экспериментальной дислипидемии

Показатель	Группа животных		
	Интактная: Н <sub>2</sub> О (n = 8)	Контрольная: ДЛП + Н <sub>2</sub> О (n = 8)	Опытная: ДЛП + фитоэкстракт (n = 8)
ПК, мкмоль NADH/мин/мг белка	14,73 ± 0,75	5,63 ± 0,45*	10,92 ± 0,97**
Н <sup>+</sup> -АТФаза, мкмоль/час/мг белка	149,21 ± 9,17	103,57 ± 7,95*	124,95 ± 10,05**
АТФ, мкмоль/г ткани	5,32 ± 0,47	3,12 ± 0,25*	4,03 ± 0,37**

**Примечание.** \* – различия статистически значимы, по сравнению с интактной группой, при  $p < 0,05$ ; \*\* – различия статистически значимы, по сравнению с контрольной группой, при  $p < 0,05$ ; n – количество животных в группе.

нормальной работы цепи переноса электронов в результате повреждения дыхательных комплексов и разобщения процесса окислительного фосфорилирования. Дальнейшая интенсификация указанных процессов ведет к нарастанию окислительного стресса и развитию более тяжелых патологий печени, таких как стеатогепатит, цирроз и некроз печени.

Показано, что курсовое введение исследуемой растительной композиции способствует частичной стабилизации системы окислительного фосфорилирования. Так, при внесении в инкубационную систему АДФ на 16 % увеличивалась скорость синтеза и сокращалось время перехода митохондрий из состояния активного фосфорилирования в состояние отдыха. Отмечалось повышение коэффициентов СД и ДК на 17 и 15 % соответственно, что указывает на повышение энергизованности митохондрий печени при фитокоррекции. Неполное восстановление метаболической регуляции дыхания говорит о наличии структурно-функциональных изменений в митохондриях печени, вызываемых дислипидемией, которые в полной мере не устранимы изучаемой растительной композицией.

Установлено, что экспериментальная дислипидемия вызывает энергодифицитное состояние, характеризующееся уменьшением активности ПК и Н<sup>+</sup>-АТФазы в 2,6 и 1,4 раза соответственно, а также снижением содержания АТФ в печени на 42 %, по сравнению с показателями интактной группы животных (табл. 2).

Курсовое введение растительной композиции на фоне дислипидемии способствует повышению активности ПК и Н<sup>+</sup>-АТФазы в печени в 1,9 и 1,2 раза соответственно, а также увеличению содержания АТФ на 29 %, по сравнению с данными контрольной группы. Более слабая активация Н<sup>+</sup>-АТФазы, по-видимому, связана с тем, что введение исследуемой композиции не приводит в достаточной мере к восстановлению целостности митохондриальных мембран и, как следствие, не повышает активность мембраносвязанного фермента – Н<sup>+</sup>-АТФазы – до уровня значений у интактных животных. Энергопротекторное действие растительной композиции обусловлено входящим комплексом фенольных антиоксидантов: флавоноидов, процианидина В3, галловой кислоты, (+)-катехина и др., – содержащихся в плодах *Rosa* и *C. sanguine*, как было показано П.Б. Лубсандоржиевой

условиях *in vitro* [3, 9], а также за счет 6-гингероля и зингиберена, содержащихся в *Z. officinale* [5, 9].

Таким образом, курсовое введение растительной композиции в экспериментально-терапевтической дозе 50 мг/кг снижает выраженность энергодифицитного состояния печени при экспериментальной дислипидемии. Данный эффект выражается в повышении сопряженности процессов окисления и фосфорилирования, частичном восстановлении функциональной активности митохондрий гепатоцитов, а также в повышении активности ферментов энергетического метаболизма. Энергопротекторное действие исследуемой композиции обусловлено ее выраженной антиоксидантной активностью, повышающей антиоксидантный статус организма и тем самым снижающей выраженность окислительного стресса при экспериментальной дислипидемии [8].

#### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Ажунова Т.А., Лемза С.В. Влияние многокомпонентного растительного средства на течение экспериментальной дислипидемии // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2015. – № 2. – С. 66–69.  
Azhunova TA, Lemza SV (2015). Influence of multi-component plant remedy on the course of experimental dyslipoproteinemia [Vliyanie mnogokomponentnogo rastitel'nogo sredstva na techenie eksperimental'noy dislipoproteidemii]. *Byul. VSNtS SO RAMN*, (2), 66-69.
2. Ажунова Т.А., Николаев С.М. Гиполипидемические и противовоспалительные свойства растительного средства «Камфора-25» // Растительные ресурсы. – 2009. – Т. 45, № 4. – С. 105–111.  
Azhunova TA, Nikolaev SM (2009). Hypolipidemic and anti-inflammatory properties of the plant-based drug «Kamfora-25» [Gipolipidemicheskie i protivovospalitel'nye svoystva rastitel'nogo sredstva «Kamfora-25»]. *Rastitel'nye resursy*, 45 (4), 105-111.
3. Лубсандоржиева П.Б. Содержание биологически активных веществ в некоторых растениях Забайкалья и их антиоксидантная активность // Химия растительного сырья. – 2009. – № 3. – С. 133–137.  
Lubsandorzheeva PB (2009). The content of biologically active substances in some Transbaikal plants and their antioxidant activity [Soderzhanie biologicheskii aktivnykh veshchestv v nekotorykh rasteniyakh Zabaykal'ya i ikh antioksidantnaya aktivnost']. *Himija rastitel'nogo syr'ya*, (3), 133-137.

4. Методы биохимических исследований: липидный и энергетический обмен / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л., 1982. – 272 с.

Prokhorova MI (ed.) (1982). Methods of biochemical studies: lipid and energy metabolism [Metody biokhimicheskikh issledovaniy: lipidnyy i energeticheskiy obmen], 271.

5. Мишарина Т.А. Антиоксидантные свойства эфирных масел // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, № 6. – С. 710–716.

Misharina TA (2009). Antioxidant properties of essential oils [Antioksidantnye svoystva efirnykh masel]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 45 (6), 710-716.

6. Николаев С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний. – Улан-Удэ, 2012. – 284 с.

Nikolaev SM (2012). Phytopharmacotherapy and phytopharmacoprophylaxis of diseases [Fitofarmakoterapiya i fitofarmakoprofilaktika zabolevaniy], 284.

7. Практикум по биохимии: учеб. пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – М.: МГУ, 1989. – 509 с.

Severin SE, Solov'yeva GA (eds.) (1989). Practicum on Biochemistry: Teaching Guide [Praktikum po biokhimi: учебное пособие], 509.

8. Торопова А.А., Лемза С.В., Разуваева Я.Г., Гуляев С.М., Ажунова Т.А. Влияние растительной композиции на окислительный стресс у белых крыс при неалкогольной жировой болезни печени // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2015. – № 5. – С. 117–119.

Торопова АА, Лемза СВ, Разуваева ЯГ, Гуляев СМ, Ажунова ТА (2015). Effect of plant composition on the oxidative stress in white rats with non-alcoholic fatty liver disease [Vliyaniye rastitel'noy kompozitsii na okislitel'nyy stress u belykh krysv pri nealkogol'noy zhirovoy bolezni pecheni]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*, (5), 117-119.

9. Badreldin HA, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A (2008). Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research. *Food and Chemical Toxicology*, (46), 409-420.

10. Long L, Lei L, Ling C, Xiaoyu L, Yaping X, Jie R, Jin F, Yan Q (2015). Effect of oleoylethanolamide on diet-induced nonalcoholic fatty liver in rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, (127), 244-250.

11. Ni HC, Li J, Jin Y, Zang HM, Peng L (2004). The experimental animal model of hyperlipidemia and hyperlipidemic fatty liver in rats. *Chin. Pharmacol. Bull.*, (20), 703-708.

12. Panov A, Dikalov S, Shalbuyeva N, Hemendinger R, Greenamyre JT, Rosenfeld J (2007). Species- and tissue-specific relationships between mitochondrial permeability transition and generation of ROS in brain and liver mitochondria of rats and mice. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 292 (2), 708-718.

#### Сведения об авторах Information about authors

**Торопова Анята Алексеевна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; e-mail: anyuta-tor@mail.ru)

**Торопова Анята Алексеевна** – Candidate of Biological Sciences, Scientific Research Officer of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (670047, Ulan-Ude, Sakh'yanova str., 6; e-mail: anyuta-tor@mail.ru)

**Разуваева Янина Геннадьевна** – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, старший преподаватель медицинского института ГБОУ ДПО Бурятский государственный университет (e-mail: tatur75@mail.ru)

**Razuvaeva Yanina Gennadyevna** – Doctor of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Senior Lecturer of Medical Institute of Buryat State University (e-mail: tatur75@mail.ru)

**Лемза Сергей Васильевич** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (e-mail: slemza@mail.ru)

**Lemza Sergey Vasilyevich** – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Experimental Pharmacology of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: slemza@mail.ru)

**Николаев Сергей Матвеевич** – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и традиционной медицины ГБОУ ДПО Бурятский государственный университет, профессор кафедры клинической фармакологии ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, главный научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (e-mail: smnikolaev@mail.ru)

**Nikolaev Sergey Matveevich** – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Pharmacology and Traditional Medicine of Buryat State University, Professor of the Department of Clinical Pharmacology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Chief Researcher Officer of the Laboratory of Experimental Pharmacology of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: smnikolaev@mail.ru)

**Верлан Надежда Вадимовна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, руководитель Регионального центра мониторинга безопасности лекарственных средств (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100; тел.: 8 (3952) 46-53-26; e-mail: nadverlarlan@mail.ru)

**Verlan Nadezhda Vadimovna** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Head of the Regional Center of Drug Safety Monitoring (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel.: +7 (3952) 46-53-26; e-mail: nadverlarlan@mail.ru)

**Ерентуева Анна Юрьевна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры общей патологии человека медицинского института ГБОУ ДПО Бурятский государственный университет (670002, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская, 36а; тел.: 8 (3012) 44-40-51; e-mail: a\_arentueva@mail.ru)

**Erentueva Anna Yurievna** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of General Human Pathology of Medical Institute of Buryat State University (670002, Irkutsk, Oktyabr'skaya str., 36a; tel.: +7 (3012) 44-40-51; e-mail: a\_arentueva@mail.ru)