

**ВЛИЯНИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ ЛАЗЕРОВ С ДЛИНАМИ
ВОЛН
877 НМ, 847 НМ И 670 НМ НА УРОВЕНЬ ХОЛЕСТЕРОЛА
В ТКАНЯХ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС
С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ**

Н.М. Орёл, С.И. Чубаров, О.Л. Автосеенко

Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

Введение

Проблема профилактики и коррекции нарушений липидного обмена и в первую очередь вторичных гиперлипидемий интенсивно решается во многих странах мира. Установлено, что гиперлипидемии, иногда весьма значительные, лежат в основе биохимических механизмов сдвигов при таких заболеваниях или состояниях как диабет, гипотиреоз, хроническая почечная недостаточность, нефротический синдром, холестаз, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца и мозга, гипертония, злоупотребление алкоголем и других [1, 2]. Таким образом, повышенный уровень липидов является ведущим фактором риска развития этих заболеваний, а липид- и холестеринснижающая терапия до сих пор рассматривается как основное средство выбора. Вместе с тем регуляция уровня холестерина с помощью лекарственных препаратов имеет целый ряд противопоказаний и дает комплекс побочных реакций, ограничивающих их применение [3]. Это служит стимулом к поиску новых эффективных нелекарственных подходов к решению проблем гиперлипидемий и целесообразным может оказаться использование низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ). Подобное предположение основано на том, что воздействие малых потоков мощности лазерного излучения ускоряет регенерационные процессы, стабилизирует показатели крови, улучшает состояние больных гипертонической болезнью, атеросклерозом, модифицирует активность ряда ферментов и состояние антиоксидантной системы [4].

Исходя из изложенного, в настоящей работе представлены результаты исследования возможности нормализации с помощью НИЛИ содержания холестерина в головном мозге и печени, общего холестерина и липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови крыс с гиперхолестеринемией, вызванной введением больших

доз доксициклина. Сравнение эффектов действия лазерного излучения с таковыми, установленными для известных гепатопротекторов.

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы выполнена на беспородных белых крысах обоего пола массой 180-200 г, содержащихся на стандартном рационе вивария.

Модель искусственной гиперхолестеринемии и холестаза создавали путем внутрижелудочного введения животным водного раствора доксициклина в дозе 540 мг/кг массы в течение 5-и дней [5,6].

Для облучения использовали разработанные на кафедре радиофизики и оптоэлектроники БГУ стабильные источники излучения инфракрасного и красного диапазона с регулируемой мощностью и геометрией пучка. Эпигастральную область intactных крыс и крыс с гиперхолестеринемией облучали одним из лазеров: инфракрасным с длиной волны $\lambda=877$ нм (ИК-877), инфракрасным с длиной волны $\lambda=847$ нм (ИК-847) или красным с $\lambda=670$ нм (К-670) ежедневно в среднем по 15 мин в течение 5 дней. Мощность экспозиции для ИК-877 – 8 мВт, ИК-847 – 7 мВт, К-670 – 5 мВт. Площадь облучения составляла ~ 80 мм², а время воздействия выбиралось таким, чтобы обеспечить в эпигастральной области животных одинаковые терапевтические дозы.

Для сравнения эффектов лазерного воздействия с влиянием хорошо изученных гепатопротекторов intactным животным и животным параллельно с доксициклином вводили внутрижелудочно в течение 5-и дней по 1 мл водного раствора силимарина в дозе 50 мг/кг массы в сутки [7].

Контролем служили intactные крысы, так как «ложное облучение» и внутрижелудочное введение воды не приводит к достоверным изменениям уровней общего и α -холестерола в печени и сыворотке крови животных.

Определение содержания холестерина проводили в экстрактах головного мозга и печени и в сыворотке крови с помощью наборов реактивов НТПК «Анализ Х» по методу [8]. Исследование уровня ЛПВП (α -холестерола) осуществляли тем же методом после осаждения в сыворотке крови липопротеинов (ЛП) низкой и очень низкой плотности гепарином в присутствии ионов марганца. Полученные результаты обработаны статистически [9].

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования установили, что эффекты лазерного облучения эпигастральной области крыс ИК-877, ИК-847 и К-670 диапазонами длин волн на уровень холестерина имеют свои особенности (рис.1). ИК-877 вызывает достоверное снижение его содержание в печени на 33,3% и сыворотке крови 41,4% и выраженную тенденцию к понижению в головном мозге. Это сопровождается незначительным уменьшением количества ЛПВП в сыворотке крови. Наличие изменений не только в печени, а в мозге и

* *

*

Рис.1. Влияние лазерного излучения на уровень холестерина в головном мозге, печени и сыворотке крови крыс (в процентах к контролю)

1 - облучение ИК-877

2 - облучение ИК-847

3 - облучение К-670

* - достоверные изменения.

сыворотке крови свидетельствует об общеорганизменном гипохолестеринемическом влиянии локального облучения ИК-877.

Воздействие ИК-847 при тех же условиях эксперимента не приводит к значимым сдвигам исследуемых показателей (снижение не превышает в среднем 6-8%). Особенностью эффектов К-670 является достоверное уменьшение содержания ЛПВП в

сыворотке крови на 46,5%, при этом уровень холестерина в печени несколько возрастает, а в мозге и сыворотке крови определяется в пределах контрольных величин.

Общеизвестно, что в основе механизма воздействия НИЛИ в видимой и инфракрасной областях спектра на живые системы лежат процессы, происходящие на клеточном и молекулярном уровнях. К подтверждаемым многочисленными исследованиями эффектам НИЛИ можно отнести увеличение содержания РНК в субклеточных структурах, стимулирование образования АТФ в митохондриях, интенсификацию работы дыхательной цепи при снижении количества потребляемого кислорода. НИЛИ при определенных условиях могут оказывать антиоксидантное действие. Происходящие изменения приводят к активации биосинтетических процессов, ускорению формирования адаптационных и компенсаторных реакций в организме. В том же время имеются сведения о том, что количественная и качественная направленность сдвигов, возникающих в тканях и организме в целом в результате реализации действия НИЛИ, зависит от параметров излучения и дозы воздействия. Эти факты позволяют моделировать стимулирующие или угнетающие эффекты лазерного излучения [10, 11, 12].

Полученный нами экспериментальный материал свидетельствует о том, что облучение ИК-877 снижает, а ИК-847 не влияет на содержание холестерина в головном мозге, печени и сыворотке крови и уровень ЛПВП в сыворотке крови при облучении интактных животных. Особенностью применения К-670 является установленное достоверное уменьшение под его влиянием уровня ЛПВП, относящихся к антиатерогенной транспортной форме липидов, при отсутствии выраженного действия на показатели содержания общего холестерина в тканях и сыворотке крови. Таким образом, из представленных результатов видно, что излучение ИК-877 способно оказывать влияние на неизменные параметры метаболизма холестерина в исследуемых органах, а излучение К-670 – на неизменные показатели содержания ЛПВП в сыворотке крови. Несмотря на это мы посчитали целесообразным исследовать возможность нормализации экспериментальной гиперхолестеринемии с помощью излучения лазеров всех исследуемых длин волн.

Для создания экспериментальной модели гиперхолестеринемии животным вводили доксициклин. Из данных литературы известно, что антибиотики тетрациклинового ряда истощают функции мозгового и коркового слоя надпочечников, угнетают биосинтез белка на этапе трансляции и элонгации, тормозят аэробное фосфорилирование, разобщают процессы фосфорилирования и дыхания. Доксициклин в больших дозах обладает

проокисидантными свойствами и способствует накоплению в тканях токсичных метаболитов – альдегидов, кетонов, гидроперекисей и др. При этом усиливается перекисное окисление липидов, изменяется структура и проницаемость плазматической и внутриклеточных мембран, нарушается обмен веществ и энергии в клетке, развивается холестаз, сопровождающийся увеличением уровня холестерина за счет угнетения процессов желчеобразования и желчевыделения [7, 13, 14].

Результаты исследований, представленные на рис.2, подтверждают возможность создания модели экспериментальной гиперхолестеринемии с помощью больших доз доксициклина, так как его внутрижелудочное введение по 540 мг/кг массы в течение 5-и дней приводит к достоверному увеличению уровня холестерина в головном мозге, печени и сыворотке крови на 42,4%, 81% и 60% соответственно. При этом отмечается перераспределение ЛП в сторону увеличения содержания ЛПВП (на 78%).

Сеансное облучение эпигастральной области крыс НИЛИ одновременно с введением доксициклина (рис.2) ослабляет гиперлипидемические эффекты последнего, однако полной нормализации содержания холестерина до контрольного уровня в исследованных органах и сыворотке крови не происходит. При совместном применении ИК-877 и доксициклина уровень холестерина определяется выше нормы в мозге, печени и сыворотке крови соответственно на 31,1%, 42% и 31% и α -холестерола на 30,5%, а ИК-847 и доксициклина – на 26,7%, 22,5% и 25,4% при нормализации содержания α -холестерола до контрольных

* * * *	* * * *	* * *	* * * *
1	2	3	4

Рис.2. Влияние лазерного излучения на уровень холестерина в головном мозге, печени и сыворотке крови крыс с экспериментальной гиперхолестеринемией, вызванной введением доксициклина (в процентах к контролю).

1- доксициклин

2- доксициклин + облучение ИК-877

3- доксициклин + облучение ИК-847

4- доксициклин + облучение К-670

* - достоверные изменения

Другие обозначения те же, что на рис. 1.

значений. Важно отметить, что более выраженным гипополипидемическим действием обладает излучение ИК-847, хотя оно не влияет на неизмененные показатели метаболизма холестерина в отличие от ИК-877. Анализ результатов облучения крыс К-670 совместно с введением доксициклина указывает на то, что его воздействие приводит лишь к

незначительной тенденции к нормализации сдвигов по сравнению с таковыми, инициированными антибиотиком, так как в мозге уровень холестерина остается достоверно выше нормы на 39,6%, в печени на 71,4%, сыворотке крови на 56,2%, а ЛПВП на 66,1%. Таким образом, для нормализации исследуемых показателей эффективным оказалось применение лазеров инфракрасной области спектра.

К препаратам гепатопротекторного профиля относятся флавоноиды. Они легко окисляются, способствуя восстановлению различных субстратов, например, тиоловых групп белков, глутатиона, влияют на активность АТФаз, холестеролгидроксилазы и других ферментов, играющих важную роль в желчеобразовании. Их антиоксидантные свойства предупреждают нарушения структуры и функции мембран печени при различных патологических состояниях, ускоряют регенерацию и восстановление поврежденных клеток. Наиболее изученным и используемым флавоноидом является силимарин. В естественном виде он содержится в цветах и семенах Расторопши пятнистой (*Silybi mariani*) и представляет собой смесь из трех различных изомерных соединений фенилхроманоновой структуры – силибина, силикрестина и силидианина. Наиболее выраженным гепатопротекторным эффектом обладает силибин [15]. Силимарин – активный антиоксидант, он предохраняет мембранные фосфолипиды от деструкции, тормозит синтез противовоспалительных простагландинов и лейкотриенов, уменьшает гиперферментемию, улучшает дыхательную функцию митохондрий, стабилизирует лизосомы. Его введение в организм препятствует развитию жировой дистрофии за счет снижения скорости синтеза жирных кислот в гепатоцитах, ингибирует фосфодиэстеразу циклических нуклеотидов, что приводит к увеличению содержания цАМФ в клетках, интенсифицирует биосинтез белка [16, 17, 18, 19].

Полученные нами экспериментальные данные (рис.3) согласуются с имеющимися в литературе. Они показали, что внутрижелудочное введение крысам силимарина в дозе по 50 мг/кг массы в течение 5-и дней достоверно понижает содержание холестерина в исследованных органах и в сыворотке крови в среднем на 17,7 – 27,9%, а ЛПВП на 27,8%.

* * * *

1

2

3

Рис.3. Влияние силимарина и лазерного излучения ИК847 на уровень холестерина в головном мозге, печени и сыворотке крови крыс с экспериментальной гиперхолестеринемией, вызванной введением доксициклина (в процентах к контролю).

1 - силимарин

2 - доксициклин + силимарин

3 - доксициклин + силимарин + ИК-847

* - достоверные изменения

Другие обозначения те же, что на рис. 1.

Введение силимарина в сочетании с доксициклином модифицирует эффекты последнего (см. рис.3 и рис.2), в направленности сдвигов прослеживаются эффекты силимарина. Это выражается в тенденции к снижению изучаемых показателей по сравнению с контролем во всех исследованных органах и сыворотке крови. Основываясь на установленных в наших исследованиях данных о том, что наиболее выраженным действием в сторону нормализации гиперхолестеринемии обладает ИК-847, мы провели серию эксперимента, в которой крысам одновременно с введением доксициклина и гепатопротектора силимарина облучали эпигастральную область ИК-847. Результаты

свидетельствуют о том, что такое воздействие является более эффективным, по сравнению с раздельным действием силимарина или ИК-847 на животных с экспериментальной гиперхолестеринемией. Количество холестерина в мозге и печени и α -холестерола в сыворотке крови при совместном действии двух влиятелей на фоне введения доксициклина определяется в пределах контрольных значений, а общего холестерина в сыворотке крови достоверно ниже нормы на 10%.

Заключение

На основании проведенных исследований можно заключить, что лазерное излучение ИК-877 влияет на регуляцию метаболизма холестерина в головном мозге, печени и сыворотке крови крыс, вызывая снижение его содержания, а К-670 способно перераспределять уровень ЛП за счет уменьшения количества ЛПВП при неизменном уровне общего холестерина.

Показано, что излучение ИК-877 и ИК-847 обладают гепатозащитными свойствами. Пятидневное сеансное их воздействие на эпигастральную область крыс в сочетании с введением больших доз доксициклина ослабляет гиперлипидемические эффекты последнего в головном мозге, печени и сыворотке крови в среднем в два раза. Более эффективным в этом отношении является воздействие ИК-847. Для К-670 подобная способность не установлена.

Гиполипидемическое действие ИК лазеров на крыс с гиперхолестеринемией менее значительно, чем действие известного гепатопротектора силимарина, однако при совместном применении ИК-847 и силимарина на фоне введения доксициклина происходит взаимное усиление эффектов, нормализующее уровень холестерина в головном мозге и печени животных.

Литература

1. *А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева.* Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – СПб: ПитерКом, –1999. –512 с. (Серия «Практическая медицина»).
2. H.S. Kruth. The fate of lipoprotein cholesterol entering the arterial wall // Curr. Opin. Lipidol. –1997. –V. 8. –P. 246-252.
3. *А.Н. Климов.* Опасно ли иметь в крови низкий холестерин или снижать его до низкого уровня? // Кардиология. –1997. –№9. –С.4-9.

4. *Н.Д. Девятков, С.М. Зубкова, И.Б. Лапрун, Н.С. Макеева.* Физико-химические механизмы биологического действия лазерного излучения // Успехи совр. биологии. –1987. –Т. 103. –В.1. –С. 31-43.
5. *К.И. Губский.* Коррекция химического поражения печени. Киев: Здоровья. –1989. – 168 с.
6. *С.Н. Голиков, И.В. Саноцки, Л.А.Тиунов.* Общие механизмы токсического действия. Л: Медицина. –1986. –280 с.
7. *Н.П.Скакун, В.В.Шманько, Н.Ю.Степанова.* Использование биофлавоноидов для профилактики отрицательного действия тетрациклина на печень //Антибиотики и медицинская биотехнология. –1985. –Т. 30. – №6. –С. 452-456.
8. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) /под ред. М.И. Прохоровой. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та. –1982. –С. 70-71.
9. *Рокицкий П.Ф.* Биологическая статистика. Мн.: Высш. школа. –1967. –272 с.
10. *И.М. Денисов.* Применение низкоинтенсивных лазеров в медицине // М.: МЛЦ «Даксима». –2003. –С. 112-119.
11. *Ю.А. Владимиров, А.Н. Осипов, Г.Н. Клебанов.* Фотобиологические основы терапевтического применения лазерного излучения // Биохимия. –2004. –Т. 69. –№1. –С. 103-113.
12. *Н.М. Орел, С.И. Чубаров, В.П. Заяц.* Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на состояние липидного метаболизма у крыс с экспериментальным внутрипеченочным холестазом // XI съезд Белорусского общества физиологов. 21-22 сентября 2006 г. Тезисы докладов. Мн. –2006. –С. 106.
13. *А.О. Буеверов.* Лекарственные поражения печени // Российский медицинский журнал. –2001. –Т. 9. –С. 13-14.
14. *С.Д. Подымова.* Болезни печени // Медицина. –1998. – Т. 8. – С. 246-264.
15. *Н.П. Скакун, Н.Ю. Степанова.* Эффективность легалона и эссенциале при поражении печени тетрациклином // Антибиотики и медицинская биотехнология. –1986. – Т. 31. –№10. –С. 781-784.
16. *H. Koch, J. Bacher, E. Loffler.* Silymarin: potent inhibitor for cyclic AMP phosphodiesterase // Meth. and Find. Exp. Clin. Pharmacol. –1985. – №7. – P.145.
17. *J. Lang, G. Deak, G. Muzes, L. Pronai, J. Feher.* Effect of the natural bioflavonoid antioxidant silymarin on superoxide dismutase (SOD) activity and expression in vitro // Biotechnol. Ther. –1993. –№4. –P. 263.

18. *А.Д. Гордиенко.* Гепатопротекторный механизм действия флавоноидов // Фармация. –1990. –№3. –С. 75–79.

19. *Т.Н. Ловягин, Э.Б. Баньковская.* Холестерин и липопротеиды плазмы крови у различных видов животных в норме и при гиперхолестеремии // Журн. эволюц. биохим. –1970. –Т. 5, – №3. –С. 255–266.

EFFECT OF RADIATION OF SEMI-CONDUCTING LASERS WITH WAVELENGTHS OF
877 NM, 847 NM AND 670 NM ON CHOLESTEROL LEVEL IN TISSUES AND BLOOD
SERUM OF RATS WITH EXPERIMENTAL HYPERCHOLESTERINEMIA

N.M. Arol, S.I. Chubarov, O.L. Avtomeenko

Belorussian State University, Vinsk, Republic of Belarus

Possibility of correction of experimental hypercholesterinemia, caused by introduction of high doses of doxycycline, with the use of laser irradiation treatment of epigastric region of rats by wavelength: $\lambda = 877$ nm (IR-877), or $\lambda = 847$ nm (IR-847) or $\lambda = 670$ nm (IR-670) was studied. It was shown, that radiations IR-877 and IR-847 possess hepatoprotective properties and decrease cholesterol level in brain, liver and blood serum of rats with hypercholesterinemia two times on average. IR-847 was more effective, however its action was less significant compared to such well-known hepatoprotector as silimarin. At combined use of IR-847 and silimarin during doxycycline introduction mutual strengthening of effects, normalizing cholesterol level in brain and liver of rats, takes place. For IR-670 similar ability was not found.