

Оригинальные исследования



© ИВАНОВ В. В., РАТЬКИН А. В., ПФАРГЕР Ю. А., КАЙДАШ О. А., АДЕКЕНОВ С. М., ЧУЧАЛИН В. С., ВЕНГЕРОВСКИЙ А. И.

УДК 615.322.012:547.913.5-314:616.153.915-092.9

ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ГРОССМИЗИНА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VIVO* И *IN VITRO*

В. В. Иванов¹, А. В. Ратькин¹, Ю. А. Пфаргер¹, О. А. Кайдаш¹, С. М. Адекенов², В. С. Чучалин¹, А. И. Венгеровский¹

¹ ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ,

г. Томск, ректор – д. м. н., проф. О. С. Кобякова; ² Акционерное общество «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Республика Казахстан, г. Караганда,

Председатель Правления – академик НАН РК С. М. Адекенов.

Цель исследования. Оценка гиполипидемического действия сесквитерпенового γ -лактона гроссмизина в экспериментах *in vivo* на модели острой гиперлипидемии, индуцированной тритоном WR 1339, и *in vitro* на клеточной культуре гепатомы HTC.

Материалы и методы. Модель гиперлипидемии, вызываемая тритоном WR 1339, характеризуется резким повышением содержания в сыворотке крови триацилглицеридов и общего холестерина, главным образом, за счет увеличения содержания холестерина в проатерогенной фракции липопротеинов низкой плотности.

Результаты. Гиполипидемическое действие гроссмизина на фоне индуцированной тритоном WR 1339 гиперлипидемии, как и препарата сравнения фенофибрата, проявляется снижением содержания триацилглицеридов и проатерогенного холестерина в липопротеинах низкой плотности в сыворотке крови, а также уменьшением количества триацилглицеридов и холестерина в печени крыс.

Заключение. В экспериментах *in vitro* гроссмизин, подобно препарату сравнения гемфиброзилу, снижает содержание липидов в культуре гепатомы, а также препятствует повышению уровня липидов в них при инкубации клеток с жировой эмульсией липофундина.

Ключевые слова: сесквитерпеновый γ -лактон гроссмизин, экспериментальная гиперлипидемия, тритон WR 1339, фенофибрат, гемфиброзил, культура крысиной гепатомы (HTC), гиполипидемическое действие.

HYPOLIPIDEMIC EFFECT OF GROSSMIZINE AT THE EXPERIMENTS *IN VIVO* AND *IN VITRO*

V. V. Ivanov¹, A. V. Ratkin¹, Yu. A. Pfarger¹, O. A. Kaidash¹, S. M. Adekenov², V. S. Chuchalin¹, A. I. Vengerovskiy¹

¹Siberian State Medical University, ²JSC «International scientific-industrial holding Phytochemistry»,

Karaganda, Kazakhstan.

The aim of the research. Evaluation of hypolipidemic effect the sesquiterpene γ -lactone grossmizine at the experiments *in vivo* on the model of acute hyperlipemia induced by Triton WR 1339, and *in vitro* on cell culture hepatoma HTC.

Materials and methods. The model of hyperlipemia, caused by Triton WR 1339, is characterized by a sharp increase of triacylglycerols in blood serum and total cholesterol mainly due to the increase of cholesterol in proatherogenic fraction of low-density lipoprotein.

Results. Hypolipidemic effect of grossmizine on the background of induced by Triton WR 1339 hyperlipemia, as a preparation of comparison fenofibrate, is manifested by reducing the content of triacylglycerides and pro-atherogenic cholesterol in low density lipoproteins in blood serum, as well as reducing the number of triacylglycerides and cholesterol in the liver of rats.

Conclusion. In the experiments *in vitro* grossmizine, like comparator product gemfibrozil, reduces the lipid content in the culture of hepatoma, and also prevents the increase of lipids in it during the incubation of the cells with the fat emulsion lipofundin.

Key words: sesquiterpene γ -lactone grossmizine, experimental hyperlipidemia, Triton WR 1339, fenofibrate, gemfibrozil, rat hepatoma culture (HTC), hypolipidemic effect.

Введение

Гиперлипидемия (гиперлипидемия, дислипидемия) – это комплексное метаболическое расстройство, характеризующееся патологически повышенным уровнем

липидов в плазме крови и/или нарушением их соотношения [4]. Наиболее важным фактором риска развития и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз, инфаркт миокарда, гипертония,

является атерогенная дислипидемия, проявляющаяся в виде «липидной триады» — сочетания гипертриацилглицеридемии, низкого уровня холестерина в липопротеинах высокой плотности (ХС-ЛВП) и повышенного содержания атерогенных липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) [1]. Проблема терапии гиперлипидемии у пациентов, к сожалению, еще полностью не решена, несмотря на большое разнообразие синтетических гиполипидемических препаратов на фармацевтическом рынке [7].

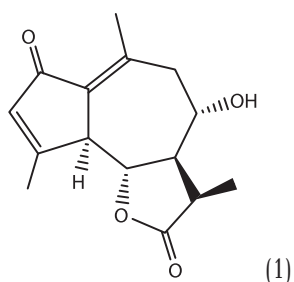
Гроссмизин — это сесквитерпеновый γ -лактон, относящийся к группе вторичных метаболитов растений — терпеноидов, биосинтез которых на начальных этапах идет по пути, схожему с биосинтезом холестерина и, подобно гиполипидемическим препаратам группы статинов, имеет лактонное кольцо в своей структуре [6]. Ранее нами было показано, что курсовое введение крысам гроссмизина на фоне острой гиперлипидемии, вызванной этанолом, приводит к снижению уровней общего холестерина (ХС) и ХС-ЛНП, а также триацилглицеридов (ТАГ) в сыворотке крыс, однако механизм данного эффекта остается до конца неясным [5]. Другим из используемых подходов для создания острой гиперлипидемии на животных является модель липемии, воспроизводимая однократным введением тритона WR 1339, основанная на ингибировании детергентом активности липопротеинлипазы [2]. Данная модель характеризуется значительным увеличением концентрации проатерогенных фракций и субфракций холестерина в липопротеинах и является перспективной для тестирования гиполипидемических препаратов [3]. В экспериментах *in vitro* на клеточных культурах гиперлипидемия воспроизводится путем инкубации клеток с жировой эмульсией липофундина [9].

Целью настоящего исследования явилось изучение гиполипидемического действия гроссмизина в экспериментах *in vivo* на модели острой гиперлипидемии, индуцированной тритоном WR 1339, и *in vitro* на клеточной культуре гепатомы НТС.

Материалы и методы

В исследовании использовали гроссмизин — сесквитерпеновый лактон гваянового типа (1), выделенный в АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» из *Achillea lanulosa Willd* и *Artemisia leucodes Schrenk*. Субстанция зарегистрирована на территории Республики Казахстан, исследуемый образец соответствует требованиям ФС РК 42-1909-08, количественное содержание — 98,5 %.

Модель острой гиперлипидемии *in vivo*, индуцированной введением крысам тритона WR 1339: Эксперименты выполнены на 36 белых крысах-самцах Wistar 1



конвенциональной категории массой 280-320 г, полученных из отдела экспериментальных биологических моделей НИИФУРМ им. Е.Д. Гольдберга (г. Томск). Животные содержались в стандартных условиях при свободном доступе к воде и пище (температура воздуха в виварии $20 \pm 2^\circ\text{C}$, влажность — не более 80 %).

Экспериментальные животные получали внутривенно сесквитерпеновый лактон гроссмизин в дозе 10 мг/кг и препарат сравнения фенофибрат («Трайкор», Франция) (100 мг/кг) в виде раствора в 0,5 % крахмальной слизи в течение 7 дней. Контрольная и 2 группа (введение тритона WR 1339) крыс получали эквивалентные количества 0,5 % раствора крахмальной слизи. На 8-е сутки через час после последнего введения животным всех групп, за исключением контрольной, внутривенно вводили детергент тритон WR 1339 в дозе 200 мг/кг. Животным группы контроля внутривенно вводили 1 мл 0,9 % раствора NaCl. Через 24 часа крыс умерщвляли асфиксией в атмосфере углекислого газа и в сыворотке крови определяли содержание триацилглицеридов и общего холестерина с помощью ферментативных наборов фирмы Chronolab (Испания) согласно протоколам, прилагаемым к наборам. ХС-ЛНП и ХС-ЛВП определяли прямым ферментативным колориметрическим методом с помощью наборов «LDLCholesterol» и «HDLCholesterol» фирмы Chronolab (Испания).

Для определения содержания ТАГ и ХС в ткани печени липидную фракцию из навесок печени (250 мг) экстрагировали по методу J. Folch смесью хлороформ-метанол (2:1). К хлороформной фазе добавляли 20 % раствор детергента Thesit® (SigmaAldrich) в хлороформе для эмульгирования липидов [13]. Хлороформ удаляли потоком азота, и содержание ТАГ и ХС определяли ферментативными методами с помощью наборов фирмы Chronolab.

Модель гиперлипидемии *in vitro*: в эксперименте использовали перевиваемую клеточную культуру крысиной гепатомы (НТС), полученную из Института цитологии РАН (г. Санкт-Петербург). Клеточную культуру НТС культивировали в 6-луночных планшетах («SPL life science», Корея) до 70-80 % конфлюэнтного монослоя ($0,5 \times 10^6$ клеток в 1 мл среды в течение двух суток) в среде DMEM с L-глутамином («Биолот», Россия) и добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки («РАА Laboratories», Австрия), 50 мкг/мл гентамицина («ПанЭко», Россия) при 37°C в CO_2 -инкубаторе MCO-5AC («SANYO», Япония) в атмосфере 95 % воздуха и 5 % CO_2 .

После достижения 70-80 % конфлюэнтного монослоя (через 48 ч) к клеткам добавляли гроссмизин и препарат сравнения гемфибозил («Sigma-Aldrich», США) в конечных концентрациях от 0,25 до 5,0 мМ. Через 48 ч оценивали жизнеспособность клеток с использованием МТТ-теста (МТТ реагент) («ПанЭко», Россия) [8, 9, 13] и содержание в них липидов флуоресцентным методом с витальным липофильным красителем Nile Red («Sigma-Aldrich», США) на микропланшетном ридере «Infinite 200PRO» («Tecan», Швейцария) при длине волны возбуждения 580 нм и эмиссии 630 нм [10, 14].

Таблица 1

Влияние курсового введения гроссмизина (7 дней, 10 мг/кг) и фенофибрата (7 дней, 25 мг/кг) на уровень триацилглицеридов, общего холестерина и холестерина в липопротеинах низкой и высокой плотности в сыворотке крови крыс при экспериментальной острой гиперлипидемии, вызванной тритоном WR 1339 ($X \pm m$, $n = 9$)

Экспериментальные группы	Триацилглицериды, ммоль/л	Общий холестерин, ммоль/л	Холестерин ЛНП, ммоль/л	Холестерин ЛВП, ммоль/л
Контроль (крахмальная слизь)	0,84±0,13	2,13±0,19	0,21±0,02	1,08±0,07
Тритон + крахмальная слизь	24,27±2,96*	6,35±0,67*	1,9±0,29*	1,76±0,24*
Гроссмизин + тритон	15,61±1,34*	4,89±0,17	0,24±0,03*	1,32±0,07
Фенофибрат + тритон	3,98±0,32*	2,21±0,14*	0,34±0,01*	1,21±0,06*

Примечание: * – $p < 0,05$ для тритона по сравнению с интактными животными, для лактонов и фенофибрата по сравнению с тритоном; n – количество животных в группе.

В экспериментах с моделированием гиперлипидемии *in vitro* клетки крысиной гепатомы инкубировали в присутствии жировой эмульсии липофундина МСТ/ЛСТ в конечной концентрации 0,05% («Б. Браун Медикал», Россия) [11]. Липофундин добавляли перед внесением препаратов.

Результаты исследования обрабатывали с использованием программ GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, США) и SPSS Statistics 17.0 (IBM, США). Результаты представлены в виде выборочного среднего (M) и ошибки среднего (m). Равенство выборочных средних проверяли с применением U-критерия Манна-Уитни для малых групп. Статистически значимые считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Установлено, что введение тритона WR 1339 крысам спустя 24 часа приводит к резкому повышению уровня общего холестерина и особенно ТАГ – в 29 раз (табл. 1). Это свидетельствует о выраженном развитии гиперлипидемии, что обусловлено способностью тритона ингибировать активность липопротеинлипазы (ЛПЛ), и, таким образом, препятствовать утилизации липопротеинов, богатых триглицеридами и холестерином [2, 6]. В сыворотке крови животных наиболее выражено, почти в 10 раз, повышалось содержание холестерина в проатерогенной фракции ХС-ЛНП. Концентрация холестерина в антиатерогенной фракции ХС-ЛВП увеличивалась в гораздо меньшей степени. В печени крыс также повышается количество ТАГ и ХС на 44% ($p < 0,01$) и 16% ($p < 0,05$) соответственно (табл. 2). Известно, что тритон WR 1339, наряду с ингибированием липазы, повышает абсорбцию холестерина из кишечника и усиливает синтез эндогенного холестерина за счет активации рецепторов, влияющих на уровень ЛНП [10].

Курсовое введение гроссмизина и препарата сравнения фенофибрата приводит к снижению уровня ТАГ в сыворотке крови экспериментальных животных на фоне развития острой гиперлипидемии на 35,7% ($p < 0,01$) и 83,6% ($p < 0,01$) соответственно (табл. 1). Фенофибрат, как и другие препараты группы дериватов фиброевой кислоты, является агонистом ядерных α -рецепторов, активирующих пролиферацию пероксисом (PPAR- α) [7] и оказывает влияние преимущественно на обмен липопротеиновых частиц,

богатых ТАГ (хиломикроны, липопротеины очень низкой и промежуточной плотности). В результате активации PPAR- α происходит увеличение экспрессии гена фермента ЛПЛ и снижение экспрессии гена апо СIII – ингибитора фермента ЛПЛ, за счет чего увеличивается липолиз ТАГ-богатых липопротеинов [10, 12]. Так же происходит увеличение экспрессии генов ферментов, вовлеченных в β -окисление жирных кислот в печени и мышцах, что приводит к снижению синтеза ТАГ из жирных кислот в печени, и, следовательно, сборки и секреции липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП) [7].

Фенофибрат на фоне введения тритона снижает уровень общего холестерина в сыворотке крови на 65% ($p < 0,01$) преимущественно за счет уменьшения проатерогенной фракции (ХС-ЛНП снижается на 82% ($p < 0,01$), а ХС-ЛВП на 31% ($p < 0,05$)) (табл. 1). Это обусловлено способностью фибратов увеличивать синтез апо AI и AII в ЛВП, что приводит к ускорению обратного транспорта холестерина из тканей в печень. Наряду с этим, снижение количества ХС-ЛНП под действием фенофибрата происходит за счет уменьшения количества мелких плотных частиц ЛНП и увеличения количества больших, менее плотных ЛНП, что повышает их «узнаваемость» рецепторами печени и улучшает катаболизм [12]. Введение фенофибрата приводило к снижению уровня ТАГ и ХС в печени на 51% ($p < 0,01$) и 36% ($p < 0,01$) соответственно (табл. 2).

Курсовое введение гроссмизина на фоне острой гиперлипидемии не приводило к значимому снижению уровня общего холестерина, несмотря на существенное снижение уровня проатерогенного ХС-ЛНП на 87% ($p < 0,01$), вероятно, вследствие того, что антиатерогенный ХС-ЛВП в сыворотке крови остается повышенным (табл. 1). Наряду с этим, гроссмизин способствовал умеренному снижению уровня ТАГ и ХС в печени крыс на 29% ($p < 0,01$) и 17% ($p < 0,05$) соответственно (табл. 2).

Для исследования *in vitro* фармакологической активности гроссмизина предварительно проводили оценку жизнеспособности клеток крысиной гепатомы при инкубации их в среде с различными концентрациями исследуемого сесквитерпенового лактона и препарата сравнения гемфиброзила (рис. 1А, рис. 1Б).

Таблица 2

Влияние курсового введения гроссмизина (7 дней, 10 мг/кг) и фенофибрата (7 дней, 25 мг/кг) на содержание триацилглицеридов и общего холестерина в печени крыс при экспериментальной острой гиперлипидемии, вызванной тритоном WR 1339 ($X \pm m$, $n = 9$)

Экспериментальные группы	Триацилглицериды, мг/г печени	Общий холестерин, мг/г печени
Контроль (крахмальная слизь)	4,87±0,33	1,94±0,06
Тритон + крахмальная слизь	7,02±0,22*	2,25±0,12*
Гроссмизин + тритон	4,97±0,30*	1,86±0,13*
Фенофибрат + тритон	3,43±0,39*	1,43±0,05*

Примечание: * $p < 0,05$ для тритона по сравнению с интактными животными, для лактонов и фенофибрата по сравнению с тритоном.

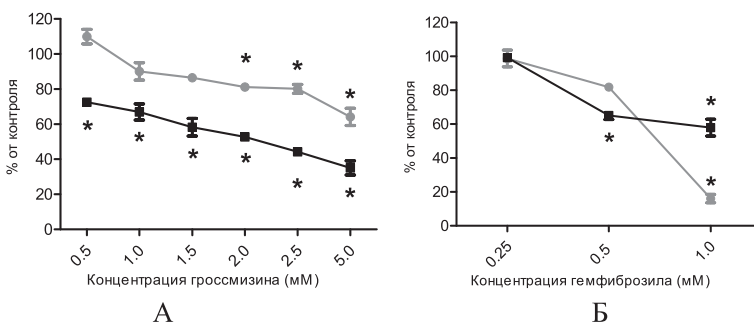


Рис. 1. Влияние гроссмизина (А) и гемфиброзила (Б) на жизнеспособность клеток () с применением МТТ-теста и на флуоресценцию Nile Red () в клеточной культуре крысиной гепатомы (НТС), $M \pm m$, $n=6$. Жизнеспособность клеток и флуоресценцию Nile Red в контроле принимали за 100 %. Примечание: * статистически значимые различия по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

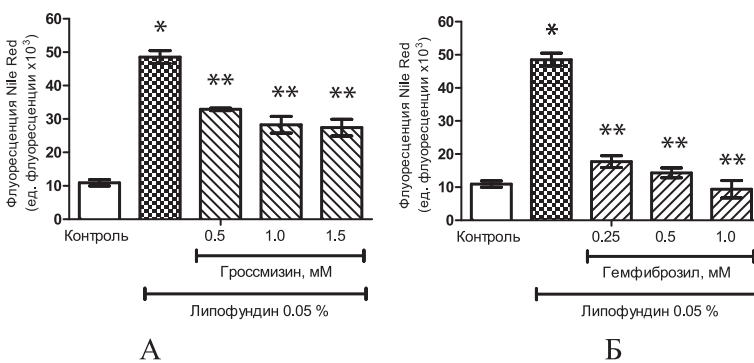


Рис. 2. Влияние гроссмизина (А) и гемфиброзила (Б) на флуоресценцию Nile Red в клеточной культуре крысиной гепатомы (НТС) при культивировании с 0,05 % липофундином, $M \pm m$, $n=6$. Примечание: * статистически значимые различия по сравнению с контролем ($p < 0,05$); ** статистически значимые различия по сравнению с липофундином ($p < 0,05$).

Гроссмизин в концентрации от 0,5 до 5,0 мМ (рис. 1А) приводил к дозозависимому снижению интенсивности флуоресценции Nile Red с $72,6 \pm 0,3$ % до $35,1 \pm 4,0$ %, а гемфиброзил с $99,2 \pm 1,9$ % до $57,9 \pm 4,9$ % при концентрации от 0,25 до 1,0 мМ ($p < 0,05$) (рис. 1Б).

С учетом полученных результатов для исследования гиполлипидемического действия на модели гиперлипидемии *in vitro* гроссмизин использовали в концентрациях от 0,5 до 1,5 мМ, а гемфиброзил от 0,25 до 0,5 мМ соответственно. При этих концентрациях жизнеспособность клеток значимо не изменялась по сравнению с контролем и отмечалось снижение уровня липидов в клетках.

Липофундин в конечной концентрации 0,05 % приводил к повышению содержания липидов в культуре клеток в 4,4 раза, о чем свидетельствует увеличение флуоресценции Nile Red с $10928,4 \pm 967,3$ до $48534,7 \pm 1924$ относительных единиц ($p < 0,05$). Полученные данные подтверждаются исследованиями E. Pan et al., которые показали, что культивирование первичных крысиных гепатоцитов с липофундином приводило к накоплению триацилглицеридов и свободных жирных кислот в клетках [9].

Добавление гроссмизина в концентрациях близких гемфиброзилу в культуральную среду способствовало снижению индуцированного липофундином повышенного содержания липидов в клетках гепатомы НТС (рис. 2А, рис. 2Б). Таким образом, в экспериментах *in vitro* гроссмизин подобно препарату сравнения гемфиброзилу препятствует повышению уровня липидов в клетках гепатомы при добавлении к ним жировой эмульсии липофундина.

Заключение

Гроссмизин на модели острой гиперлипидемии, индуцированной у крыс тритоном WR 1339, и в экспериментах *in vitro* на культуре крысиной гепатомы НТС оказывает гиполлипидемическое действие.

Гиполлипидемическое действие исследуемого лактона проявляется снижением содержания триацилглицеридов и проатерогенного холестерина в липопротеинах низкой плотности в сыворотке крови, а также уменьшением количества триацилглицеридов и холестерина в печени крыс с индуцированной тритоном WR 1339 гиперлипидемией.

В экспериментах *in vitro* гроссмизин подобно препарату сравнения гемфиброзилу препятствует повышению уровня липидов в клетках гепатомы при добавлении к ним жировой эмульсии липофундина.

Литература

1. Буеверова Е.Л., Драпкина О.М., Ивашкин В.Т. Атерогенная дислипидемия и печень // Российские медицинские вести. — 2008. — Т. 13, № 1. — С. 17-23.
2. Короленко Т.А., Тузиков Ф.В., Васильева Е.Д. Изменения фракционного состава липопротеинов сыворотки крови мышей и крыс при липемии, вызванной Тритоном

WR 1339 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2010. — Т. 149, № 5. — С. 499-502.

3. Логинова В. М., Тузиков Ф. В., Тузикова Н. А. Влияние аторвастатина на липиды сыворотки крови мышей при экспериментальной липемии // Бюллетень СО РАМН. — 2011. — Т. 31, № 2. — С. 133-137.

4. Николаев И. В., Мулюкова Р. В., Каюмова Л. Р., Воробьева Е. В., Горбунова В. Ю. Анализ взаимодействия аллелей генов липидного обмена при дислипидемии // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2014. — Т. 18, № 4/2. — С. 856-866.

5. Ратькин А. В., Кайдаш О. А., Иванов В. В., Венгеровский А.И., Адекенев С.М., Чучалин В.С. Эффекты гроссгемина и гроссмизина при модели острой гиперлипидемии, индуцированной этанолом // Бюллетень сибирской медицины. — 2014. — Т. 13, № 1. — С. 67-72.

6. Роднова Е.А., Иванов В.В., Ледюкова С.И., Чучалин В.С., Ратькин А.В., Рахимова Б.Б., Хабаров И.А., Адекенев С.М. Гиполипидемическое действие леукомизина на модели острой гиперлипидемии, индуцированной этанолом // Бюллетень сибирской медицины. — 2013. — Т. 12, № 1. — С. 43-48.

7. Ahn C. H., Choi S. H. New drugs for treating dyslipidemia: beyond statins // Diabetes Metab. J. — 2015. — Vol. 39, № 2. — P. 87-94.

8. Giri Sh., Nieber K., Acikgoz, A., Pavlica, S., Keller M., Bader A. Telomerase activity and hepatic functions of rat embryonic liver progenitor cell in nanoscaffold-coated model bioreactor // Mol. Cell. Biochem. — 2010. — Vol. 336. — P. 137-149.

9. Ilan E., Tirosh O., Madar Z. Triacylglycerol-mediated oxidative stress inhibits nitric oxide production in rat isolated hepatocytes // J. Nutr. — 2005. — Vol. 135, № 9. — P. 2090-2095.

10. Millar J. S., Cromley D. A., McCoy M. G., Rader D.J., Billheimer J.T. Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339 // J. Lipid Res. — 2005. — Vol. 46, № 9. — P. 2023-2028.

11. Shen Ch., Meng Q., Schmelzer E., Bader A. Gel entrapment culture of rat hepatocytes for investigation of tetracycline-induced toxicity // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 2009. — Vol. 238. — P. 178-187.

12. Tenenbaum A., Fisman E.Z., Fibrates are an essential part of modern anti-dyslipidemic arsenal: spotlight on atherogenic dyslipidemia and residual risk reduction // Cardiovasc. Diabetol. — 2012. — Vol. 11, № 125. — P. 1-10.

13. Van Veldhoven P.P., Swinnen J.V., Esquent M., Verhoeven G. Lipase-based quantitation of triacylglycerols in cellular lipid extracts: requirement for presence of detergent and prior separation by thin-layer chromatography // Lipids. — 1997. — Vol. 32, № 12. — P. 1297-1300.

14. Xu S., Huang Y., Xie Y., Lan T., Le K., Chen J. Evaluation of foam cell formation in cultured macrophages: an improved method with Oil Red O staining and Dil-oxLDL uptake // Cytotechnology. — 2010. — Vol. 62. — P. 473-481.

References

1. Bueverova E.L., Drapkina O.M., Ivashkin V.T. Atherogenic dyslipidemia and liver // Russian Medical News. — 2008. — Vol. 13, № 1. — P. 17-23.

2. Korolenko T.A., Tuzikov A.V., Vasilyeva E.D. Changes in fractional composition of lipoprotein in mice and rats serum at lipemia, caused by Triton WR 1339 // Bul. Experiment. Biol. and Med. — 2010. — Vol. 149, № 5. — P. 499-502

3. Loginova V.M., Tuzikov F.V., Tuzikova N.A. Effect of atorvastatin on lipids of mice serum in experimental hyperlipidemia // Bulletin SB RAMS. — 2011. — Vol. 31, № 2. — P. 133-137.

4. Nikolaev I.V., Mulyukova L.R., Kayumova L.R., Vorobyova E.V., Gorbunova V.Yu. Analysis of the interaction of genes alleles in lipid metabolism at dyslipidemia // Vavilov Journal of Genetics and Selection. — 2014. — Vol. 18, № 4/2. — P. 856-866.

5. Rat'kin A.V., Kaydash O.A., Ivanov V.V., Vengerovsky A.I., Adekenov S.M., Chuchalin V.S. The effects of grossgemine and grossmizine at the model of acute hyperlipidemia induced by ethanol // Bulletin of Siberian Medicine. — 2014. — Vol. 13, № 1. — P. 67-72.

6. Rodnova E.A., Ivanov V.V., Ledyukov S.I., Chuchalin V.S., Rat'kin A.V., Rakhimova B.B., Khabarov I.A., Adekenov S.M. Hypoлипидемическое действие леукомизина на модели острой гиперлипидемии, индуцированной этанолом // Bulletin of Siberian Medicine. — 2013. — Vol. 12, № 1. — P. 43-48.

7. Ahn C. H., Choi S. H. New drugs for treating dyslipidemia: beyond statins // Diabetes Metab. J. — 2015. — Vol. 39, № 2. — P. 87-94.

8. Giri Sh., Nieber K., Acikgoz, A., Pavlica, S., Keller M., Bader A. Telomerase activity and hepatic functions of rat embryonic liver progenitor cell in nanoscaffold-coated model bioreactor // Mol. Cell. Biochem. — 2010. — Vol. 336. — P. 137-149.

9. Ilan E., Tirosh O., Madar Z. Triacylglycerol-mediated oxidative stress inhibits nitric oxide production in rat isolated hepatocytes // J. Nutr. — 2005. — Vol. 135, № 9. — P. 2090-2095.

10. Millar J. S., Cromley D. A., McCoy M. G., Rader D.J., Billheimer J.T. Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339 // J. Lipid Res. — 2005. — Vol. 46, № 9. — P. 2023-2028.

11. Shen Ch., Meng Q., Schmelzer E., Bader A. Gel entrapment culture of rat hepatocytes for investigation of tetracycline-induced toxicity // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 2009. — Vol. 238. — P. 178-187.

12. Tenenbaum A., Fisman E.Z., Fibrates are an essential part of modern anti-dyslipidemic arsenal: spotlight on atherogenic dyslipidemia and residual risk reduction // Cardiovasc. Diabetol. — 2012. — Vol. 11, № 125. — P. 1-10.

13. Van Veldhoven P.P., Swinnen J.V., Esquent M., Verhoeven G. Lipase-based quantitation of triacylglycerols in cellular lipid extracts: requirement for presence of detergent and prior separation by thin-layer chromatography // Lipids. — 1997. — Vol. 32, № 12. — P. 1297-1300.

14. Xu S., Huang Y., Xie Y., Lan T., Le K., Chen J. Evaluation of foam cell formation in cultured macrophages: an improved method with Oil Red O staining and Dil-oxLDL uptake // Cytotechnology. — 2010. — Vol. 62. — P. 473-481.

Сведения об авторах

Иванов Владимир Владимирович – кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101; e-mail: ivanovvv1953@gmail.com.

Ратькин Александр Валентинович – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101; e-mail: ratkin@ssmu.ru.

Пфаргер Юлия Андреевна – аспирант кафедры патофизиологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101; e-mail: ipfarger@gmail.com.

Кайдаш Ольга Александровна – аспирант кафедры фармакологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101.

Адекинов Сергазы Мынжасарович – доктор химических наук, профессор, Председатель Правления АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», академик НАН РК.

Адрес: Республика Казахстан, г. Караганда, ул. М. Газалиева 40; тел. 8(7212)433127; e-mail: arglabin@phyto.kz.

Чучалин Владимир Сергеевич – декан фармацевтического факультета, заведующий кафедрой фармацевтической технологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101; e-mail: phtech@ssmu.ru.

Венгеровский Александр Исаакович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ.

Адрес: г. Томск, 634050, Московский тракт 2; тел. 8(3822)901101.

Authors

Ivanov Vladimir Vladimirovich – Cand. Med. Sci., Associate Professor, Head of the Laboratory of Biological Models, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; Phone: 8 (3822) 901101; e-mail: ivanovvv1953@gmail.com.

Rat'kin Alexander Valentinovich – Cand. Pharm. Sci., Associate Professor, Department of Pharmaceutical Technology, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; Phone: 8 (3822) 901101; e-mail: ratkin@ssmu.ru.

Pfarger Yuliya Andreevna – Post-graduate Student, Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; e-mail: ipfarger@gmail.com.

Kaidash Olga Alexandrovna – Post-graduate Student, Department of pharmacology, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF

Adekenov Sergazy Mynzhasarovich – Dr. Chem. Sci., Academician of NAS RK, Chairman of the board of JSC «International scientific-industrial holding Phytochemistry» (Karaganda, Kazakhstan).

Address: Republic of Kazakhstan, Karaganda, ul. M. Gazalieva, 4; Phone: 8(7212) 433127; e-mail: arglabin@phyto.kz.

Chuchalin Vladimir Sergeevich – Dr. Pharm. Sci., Dean of the Faculty of Pharmacy, Siberian State Medical University.

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; Phone: 8(3822)901101; e-mail: phtech@ssmu.ru.

Vengerovskiy Alexander Isaacovich – Dr. Med. Sci., Head of Department of Pharmacology, Professor, Siberian State Medical University

Address: 2, Moscovskiy Trakt, Tomsk, 634050, RF; Phone: 8(3822)901101; e-mail: phtech@ssmu.ru.

© ЗАМАЙ С. С., ПРОКОПЕНКО В. С., ЗАМАЙ А. С., ДЕНИСЕНКО В. В., КИМ П. Д., ОРЛОВ В. А., ЗАМАЙ Г. С., ИВАНЧЕНКО Т. И., ЗАМАЙ Т. Н.

УДК 577.29

ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫЕ АПТАМЕРАМИ МАГНИТНЫЕ НАНОДИСКИ ДЛЯ НАНОХИРУРГИИ ОПУХОЛЕЙ

С. С. Замай¹, В. С. Прокопенко^{1,3}, А. С. Замай^{1,2}, В. В. Денисенко^{1,4,5},

П. Д. Ким¹, В. А. Орлов^{1,3,4}, Г. С. Замай^{1,2}, Т. И. Иванченко¹, Т. Н. Замай^{2,4}

¹Красноярский научный центр СО РАН, Председатель – академик РАН В. Ф. Шабанов;

лаборатория биоманнитных материалов и биосенсоров, руководитель – д. ф.-м. н., проф. П. Д. Ким;

²ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения РФ, ректор – д. м. н., проф. И. П. Артюхов, лаборатория биомолекулярных и медицинских технологий, руководитель – д. б. н. А. С. Замай; ³ГБОУ ВПО Красноярский государственный педагогический университет им. В. П. Астафьева Министерства образования и науки РФ, ректор – д. м. н.

В. А. Ковалевский; ⁴ГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет, ректор – академик РАН Е. А. Ваганов;

⁵Институт вычислительного моделирования СО РАН, директор – член-корр. РАН В. В. Шайдуров.

Цель исследования. Определение перспектив использования функционализированных ДНК-аптамерами магнитных никелевых нанодисков с золотым покрытием для адресной клеточной хирургии онкологических заболеваний.

Материалы и методы. В качестве модели опухоли была использована асцитная карцинома Эрлиха. Теоретически и экспериментально исследованы структуры магнитного поля пермалоевых и кобальтовых дисков Au-Fe(20)Ni(80)-Au и Au-Co-Au.

Результаты. Выполнены оценки механического воздействия нанодисков на клеточную мембрану в переменном магнитном поле. Определены оптимальные состав, геометрия и структура остаточной намагниченности нанодисков. Экспериментально *in vitro* и *in vivo* для асцитной карциномы Эрлиха показана возможность использования функционализированных ДНК-аптамерами трехслойных Au-Ni-Au нанодисков с дипольной структурой остаточной намагниченности для адресного разрушения клеток-мишеней.

Заключение. На основании теоретических расчетов и экспериментальных данных сделано заключение о том, что нанодиски Au-Ni-Au, обладающие магнитными свойствами, могут быть использованы для разработки новых методов и препаратов для малоинвазивной клеточной нанохирургии, которая позволяет адресно и дозированно уничтожать только клетки опухоли, в том числе, и метастазы.

Ключевые слова: нанохирургия, никелевые магнитные нанодиски, аптамеры, асцитная карцинома Эрлиха.