

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Д.М. АЗИЗОВА

**ВЛИЯНИЕ БИОМАЙСА НА МОЛЕКУЛЯРНЫЕ
МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА**

Ташкент – 2021

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ**

«УТВЕРЖДАЮ»

Начальник управления
науки и образования
д.м.н., профессор



У.С. Исмаилов
2021 г.

**ВЛИЯНИЕ БИОМАЙСА НА МОЛЕКУЛЯРНЫЕ
МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
АТЕРОСКЛЕРОЗА**

(монография)



Ташкент - 2021

УДК: 616.314-007.23:632.95]-053.5/.6-08-084-614.7

Д.М. Азизова // «Влияние биомайса на молекулярные механизмы развития экспериментального атеросклероза» Монография/ редакционно-издательский отдел ТМА– Ташкент: 2021 г.- 136 с.

Составители:

Азизова Д.М. – PhD, старший преподаватель кафедры медицинской и биологической химии Ташкентской медицинской академии.

Рецензенты:

Азизова Ф.Х. – доктор медицинских наук, профессор заведующая кафедрой гистологии, медицинской биологии и генетики Ташкентской медицинской академии

Юлдашев Н.М. – доктор биологических наук, профессор заведующий Кафедрой медицинской и биологической химии Ташкентского медицинского педиатрического института

Утверждено и рекомендовано к опубликованию Учебно-методическим Советом ТМА от _____ г. Протокол № _____

Монография посвящена механизмам развития атеросклероза и совершенствованию методов его лечения. Охвачены история и современные представления о развитии атеросклероза, вопросы роли обмена холестерина и жирных кислот в организме человека, возможные/известные пути коррекции патологии – применение биодобавок и современных медикаментозных средств терапии. Материал изложен в сжатой и доступной для восприятия форме, хорошо иллюстрирован, имеет обширный список литературы. Монография предназначена для аспирантов, научных работников и преподавателей, специализирующихся в области исследований сердечно - сосудистой системы, а также может быть использована в образовательном процессе, в том числе и в области биомедицины.

ISBN 978-9943-6409-9-3

© Д.М. Азизова

© “O’ZKITOBSAVDONASHRIYOTI”, 2021

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АДМА	конкурентный ингибитор фермента NOS
АЛК	альфа-линоленовая кислота
АНД	антикоагулянт непрямого действия
АОС	антиоксидантная система
Апо	Аполипопротеины
АРК	арахидоновая кислота
АТФ	Аденозинтрифосфат
АФК	активная форма кислорода
АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время
БАД	биологически активная добавка
БППЭХ	белок переносящие полиеновые эфиры холестерина
БСК	Болезни системы кровообращения
ГБ	гипертонической болезнь
ГЛК	гамма-линоленовая кислота
ГЛП	Гиперлипидемия
ГЛЮТ	глюкозный транспортер
ГМГ- КоА- редуктазы	гидроксиметилглутарил-коа-редуктазы
ГТГ	Гипертриглицеридемия
ГХ-МС/МС	хромато-масс-спектрометр с газовым хроматографом
ГХС	Гиперхолестеринемия
ДВС	диссеминированное внутрисосудистое свертывание
ДГК	Докозагексаеновая
ДЛП	Дислипопротеинемия
ДН	диабетическая нефропатия
ДС	двойными связя
ЖЗП	жмых зародышей пшеницы
ЖК	жирные кислоты
ЖКА	альдегиды жирных кислот
ИБС	ишемическая болезнь сердца

Ил	Интерлейкин
ИМ	Инфарк миокарда
ИР	Инсулинорезистентность
КБС	коронарная болезнь сердца
КФК	Креатинфосфокиназа
ЛПВП	Липопротеины высокой плотности
ЛПЛ	Липопротеинлипаза
ЛХАТ	Лецитинхолестеринацилтрансфераза
МЖК	мононенасыщенные жирные кислоты
НЖК	насыщенные жирные кислоты
ННЖК	ненасыщенные жирные кислоты
НЭЖК	неэтерифицированные жирные кислоты
ОКС	острый коронарный синдром
ОС	окислительный стресс
ОХС	общий холестерин
ПВ	протромбиновое время
ПНЖК	полиненасыщенные жирные кислоты
ПНЖК	полиненасыщенные жирные кислоты
ПТИ	протромбиновый индекс
РСТ	рыхлой соединительной ткани
СВП	сельские врачебные пункты
СКЖ	секвестранты желчных кислот
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
ТАГ	Триацилглицериды
ТГ	Триглицериды
фВ	фактор виллебранда
ФИ	Фосфатидилинозитол
ФЛ	Фосфолипиды
ФР	факторами риска
ФС	Фосфатидилсерин
ФХ	фосфатидилхолин (лецитин)
ФЭА	фосфатидилэтаноламин (кефалин)
ЭПК	эйкозапентаеновая кислота

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	8
ГЛАВА I. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О РАЗВИТИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА	30
ГЛАВА II. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА СЫВОРОТКИ КРОВИ ...	50
ГЛАВА III. ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ	60
ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ БИОМАЙСА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНУЮ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЮ ...	83
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	105
ВЫВОДЫ	112
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	114

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день в нашей стране для развития медицинской сферы по мировым стандартам, снижения уровни различных соматических заболеваний в соответствии с Указом Президента Республики Узбекистан № УП-5590 от 7 декабря 2018 года «О комплексных мерах по коренному усовершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан» определены следующие задачи «...повышение эффективности, качества и доступности медицинской помощи населению, а также создание системы медицинской стандартизации, внедрение высокотехнологичных методов диагностики и лечения, пропаганды здорового образа жизни и профилактики заболеваний за счет создания эффективных моделей патронажа и диспансеризации...». Решение этих задач позволит снизить частоту распространения заболеваний, в частности, сердечно-сосудистой системы и инвалидизации за счет улучшения использования современных технологий в предоставлении качественных медицинских услуг до уровня современных медицинских услуг по диагностике и лечению населения заболеваний обмена веществ среди населения. В Узбекистане доказана питательная и биологическая ценность пищевых веществ, и эффективность их использования при лечении заболевания [5; с. 33-34,47; с.65-67,66; с. 138-141,67; с. 25-27] Это Биомайса - биологически активная добавка из ростков пшеницы. Но пока не изучено его действие на развитие экспериментального атеросклероза.

В последние годы исследования в биологической химии и клинической медицине все чаще проводятся на клеточно-мембранном и молекулярном уровнях. Интенсивное развитие получили исследования роли ЖК в патогенезе атеросклероза, с приоритетным изучением индивидуального вклада каждой ЖК [80; 153; 107;108; 155 ;289]. Жирным кислотам приписывают двойную роль в атерогенезе. Показано, что насыщенные ЖК (НЖК) повышают риск развития ССЗ, а высокое содержание в крови

полиненасыщенных ЖК (ПНЖК), особенно омега-3 ПНЖК, связано с низкой частотой смертельных исходов от ИБС [34; 35; 118; 134]. В ряде эпидемиологических исследований было доказано, что высокие уровни НЖК повышают частоту заболеваемости ИБС, выраженность атеросклеротических поражений артерий [30]. Так Х. Chen et al. [108], изучения жирно-кислотный состав плазмы крови пациентов с ИБС, установили увеличение содержания пальмитиновой и стеариновой кислот, по сравнению с нормой. Другие исследователи выявили связь НЖК с более высоким риском развития ишемического инсульта [189]. Sun L. et al. [145] установили связь между ИБС и повышенным содержанием пальмитиновой и олеиновой кислот в сыворотке крови. Значение ПНЖК для гомеостаза организма человека не вызывает сомнений. В последнее десятилетие определено прогностическое значение не только содержания в крови омега-3, но и омега-6 ПНЖК [8]. Китайские исследователи [204] предположили, что высокие уровни омега-6 (C20:4) ЖК и низкие уровни омега-3 (C22:6, C20:5) значительно влияют на развитие ИБС: приводят к атерогенному состоянию. Watanabe T. et al. [52] также утверждают, что низкое содержание омега-3 ПНЖК в сыворотке крови связано с прогрессированием атеросклероза в коронарных и сонных артериях. Большое внимание ученые уделяют соотношению омега-6 ПНЖК и омега-3 ПНЖК [34; 35]. Чем выше коэффициент омега-6 ПНЖК/омега-3 ПНЖК, тем больше риск развития многих хронических и, особенно, ССЗ [152]. Накопленные данные четко указывают на неблагоприятное влияние НЖК на сердечно-сосудистую систему (ССС), но данные о влиянии МНЖК и ПНЖК на риск развития ССЗ, довольно противоречивы.

Жирные кислоты (ЖК) представляют собой алифатические одноосновные карбоновые кислоты с открытой цепью, в основном они содержатся, в этерифицированной форме в жирах, маслах и воске растительного и животного происхождения [5]. Основные ЖК в организме человека имеют чётное число атомов углерода, что связано с особенностями их биосинтеза, при котором к

углеводородному радикалу ЖК последовательно присоединяются двухуглеродные фрагменты [6].

Жирные кислоты являются структурными компонентами различных липидов. В составе триацилглицеридов (ТГ) они депонируют энергию, так как их радикалы содержат богатые энергией СН₂-группы [7]. Благодаря своей структуре, при окислении связей С-Н ЖК дают в два раза больше энергии, чем полисахариды, а это делает жир наиболее эффективной формой хранения избыточной энергии у живых организмов. Поскольку увеличение клеточной концентрации свободных жирных кислот (СЖК) является токсичным, то они хранятся, в основном в виде триглицеридов во внутриклеточных нейтральных липидных каплях. Последние служат своеобразными резервуарами энергии, а также как запас ЖК и стерина, необходимый для синтеза мембран [8]. Жиры и фосфолипиды организма при нормальной температуре тела имеют жидкую консистенцию, так как количество ненасыщенных ЖК преобладает над насыщенными. В фосфолипидах мембран ненасыщенных кислот может быть до 80-85%, а в составе жиров подкожного жира - до 60% [5].

Свободные ЖК в организме природного происхождения, образованы посредством ферментативного гидролиза триацилглицеридов (ТГ). В свободном, неэтерифицированном состоянии ЖК в организме содержатся в небольшом количестве, например, в крови, где они транспортируются в комплексе с белком альбумином [9].

Жирные кислоты, как правило, содержат неразветвленную цепь из атомов углерода (С₄-С₂₄, включая углерод карбоксильной группы) и могут быть насыщенными ненасыщенными [10]. По степени ненасыщенности ЖК подразделяют на насыщенные, в которых двойные связи С=С отсутствуют, мононенасыщенные, содержащие одну кратную связь, и полиненасыщенные - содержат более одной кратной связи [11]. По длине углеродной цепи ЖК подразделяют на короткоцепочечные (С₄ до С₆), среднецепочечные (С₇ до С₁₂) и длинноцепочечные (более С₁₃). Короткоцепочечные

ЖК зачастую представляют собой промежуточные продукты синтеза или деградации более длинных ЖК, в отличие от которых не являются основными компонентами биологических мембран. В состав большинства мембран входят липиды с ацильными группами, содержащими 14, 16, 18, 20, 22 или 24 атомов углерода [170].

Многие ЖК еще до полного изучения их строения называли тривиально, и эти названия настолько прочно утвердились в публикациях, что их трудно исключить из употребления, поэтому правила ИЮПАК допускают их использование для номенклатуры ЖК [64].

Насыщенные ЖК, в отличие от ненасыщенных весьма устойчивы к окислению. Температура плавления ЖК возрастает с увеличением длины цепи, а их растворимость в воде уменьшается

Следует отметить, что при физиологической температуре (37°C) ЖК с количеством атомов углерода 10 и меньше являются жидкостями, а C12 и более – твердые вещества. Короткоцепочечные ЖК C2-C4 полностью смешиваются с водой, а длинноцепочечные, начиная с C20, - практически нерастворимы.

По количеству двойных связей в молекуле жирные кислоты классифицируются следующим образом: ЖК с одной двойной связью относятся к моноеновым или мононенасыщенным; ЖК с более одной двойной связью, относятся к классу полиеновых или полиненасыщенных.

Двойные связи ЖК в организме человека имеют цис-конфигурацию. Связи делает алифатическую цепь молекулы изогнутой и, тем самым нарушает упорядоченное расположение насыщенных радикалов ЖК в фосфолипидах мембран (*рис. 1*), и снижает температуру плавления. Чем больше двойных связей в ЖК липидов, тем ниже температура их плавления. ЖК с транс - конфигурацией двойной связи могут поступать в организм с пищей, например, в составе маргарина. В этих кислотах отсутствует излом, характерный для цис-связи, поэтому жиры, содержащие такие ненасыщенные кислоты, имеют более высокую температуру плавления, т.е. они более твёрдые по консистенции [6]. (табл.2 и 3)

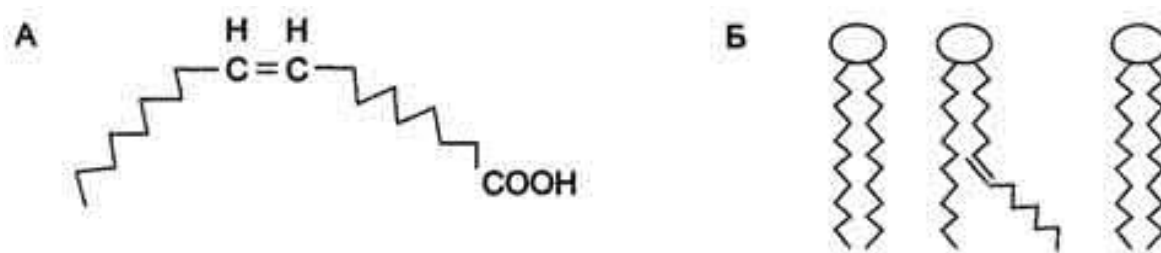


Рисунок 1 - Конфигурации радикалов ЖК.

А - цис-конфигурация радикала ЖК; Б - нарушение упорядоченного расположения радикалов насыщенных ЖК в гидрофобном слое мембран ненасыщенной кислоты с цис-конфигурацией двойной связи.

Полиненасыщенные ЖК, необходимые животным и человеку, образуются в процессе биосинтеза и, называются незаменимыми. Незаменимые ЖК поступают в организм только с пищей. К незаменимым ПНЖК относятся 18-атомные кислоты семейств $n-6$ и $n-3$ (омега-6 и омега-3): линолевая кислота (ЛК) с двумя двойными связями ($18:2n-6$) и альфа-линоленовая кислота (АЛК) с тремя двойными связями ($18:3n-3$) [20].

В значительной степени в состав пищи входят насыщенные и мононенасыщенные жирные кислоты и состоящие из них триглицериды, в частности, масляная, миристиновая, олеиновая, стеариновая, пальмитиновая, маргаритиновая, эруковая, гадолеиновая и другие. В основном насыщенные жирные кислоты содержатся в животных жирах, пальмовом и кокосовом масле, арахисе, а также воскоподобной субстанции кожуры многих плодов. Мононенасыщенные жирные кислоты содержатся во многих растительных маслах (в т. ч., рапсовом), в жире и коже животных (в т. ч., в рыбьем жире) [41]. Роль жирных кислот в метаболизме многогранна. Помимо участия в энергетическом обмене, они входят в состав фосфолипидов клеточных мембран, эйкозаноидов, а также оказывают влияние на функционирование и соотношение липопротеидов плазмы крови. Так, насыщенные жирные кислоты, больше, чем другие пищевые компоненты способствуют повышению холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛНП). Также неблагоприятно действуют только транс изомеры жиров [5].

Механизм этого влияния обусловлен ингибированием рецепторов ЛНП с усилением продукции апоВ-содержащих липопротеидов. Эффект заметно усиливается при избыточном потреблении холестерина с пищей.

В случае гипохолестериновой диеты насыщенные жирные кислоты, по преимуществу, используются в энергетических целях [6]. Мононенасыщенные жирные кислоты, как показано в экспериментах на приматах, снижают уровень ЛНП и, в целом, понижают соотношение ЛНП к ЛВП (липопротеидам высокой плотности). Однако в отличие от насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот, мононенасыщенные взаимодействуют с холестерином, обогащая липопротеиды частичками холестерил-олеата, изменяющего структуру липопротеидов и повышающего их атерогенность [7]. Следует отметить, что действие насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот на обмен липидов зависит и от пищи, в которой они содержатся. Так, сыры гораздо слабее повышают уровень ЛНП, чем сливочное масло, а кисломолочные продукты даже могут снижать его. Кроме того, состав подкожного жира, как показано недавними исследованиями, тоже оказывает воздействие на соотношение липидов крови. Высокое содержание в нём линолевой кислоты, например, связано со снижением риска инфаркта миокарда [8]. Жирные кислоты способны метаболизироваться в организме человека, в том числе подвергаться элонгации, десатурации и окислению. Однако среди них очень важно выделять незаменимые – те, которые организм может получить только с пищей. Наиболее важными среди пищевых жирных кислот считаются полиненасыщенные. В последние годы многочисленными исследованиями доказано, что повышенное их потребление уменьшает риск развития злокачественных опухолей, ослабляет инсулинорезистентность, снижает тяжесть сердечно-сосудистой патологии [10, 11]. Наиболее изучены эйкозапентаеновая (ЭПК, тимнодоновая) и докозагексаеновая (ДГК, цервоновая) кислоты, содержащиеся в жире морских рыб, а также растительная альфа-линоленовая (АЛК). Это – омега-3 кислоты, что

означает нахождение первой ненасыщенной (двойной) связи между алкильными радикалами в положении 3 от метильного конца молекулы. В мета-анализе исследований АЛК (Wendland et al., 2006), включившем 2566 литературных источников, 18 исследований с общим числом пациентов 1400, было показано, что дополнительное потребление этого пищевого компонента снижает концентрацию в плазме крови фибриногена и глюкозы на 0,17 и 0,2 ммоль/л, соответственно. Повышается уровень ЛВП, снижается уровень общего холестерина и ЛНП. В целом, как минимум, на 6% снижается риск осложнения ишемической болезни сердца и летальность при этом заболевании [12, 13]. В другом исследовании показано снижение риска развития инсульта и инфаркта миокарда при дополнительном потреблении АЛК [14]. Жирные кислоты с более длинной молекулой – ДГК и ЭПК-, получаемые человеком почти исключительно из рыбьего жира, также продемонстрировали высокую эффективность в профилактике сердечно-сосудистых событий. Так, они снижают уровень триглицеридов крови, повышают количество захватываемого ЛВП холестерина. Кроме того, они участвуют в регулировании продукции эйкозаноидов из арахидоновой кислоты, влияют на ионные потоки через мембрану кардиомиоцитов [15]. Имеются данные и о снижении риска внезапной смерти [16]. Как минимум, в четырёх независимых исследованиях показано, что кардиопротективный эффект полиненасыщенных жирных кислот более выражен при употреблении пищевых добавок, содержащих их в очищенном виде, нежели морской рыбы. Снижение частоты сердечно-сосудистых событий было связано с применением капсул рыбьего жира или отдельных омега-3 кислот в количестве 1–1,8 г в день [17].

Положительный эффект омега-3 жирных кислот объясняется, в первую очередь, снижением уровня общего холестерина плазмы и атерогенных фракций липопротеидов, стабилизацией мембран кардиомиоцитов, улучшением эластичности стенки артерий. Показано уменьшение агрегации тромбоцитов, снижение уровня маркёров системного воспаления: С-реактивного белка, ИЛ-6,

сывороточного амилоида А. Омега-3 кислоты снижают концентрацию триглицеридов на 35% при её исходном повышении, уменьшают количество желудочковых экстрасистол, увеличивают вариабельность ритма сердца у больных после инфаркта миокарда, дозозависимо снижают артериальное давление [18, 19, 20]. На клеточном уровне эффект АЛК связан с улучшением текучести фосфолипидной жидкокристаллической структуры мембраны клетки. Эффект ЭПК, главным образом, обусловлен модификацией воспалительного ответа путём замещения арахидоновой кислоты в мембране клеток иммунной системы, что приводит к нормализации синтеза эйкозаноидов. Роль ДГК связывают с улучшением проницаемости клеточной мембраны, формирования и перемещения микровезикул. Это способствует более свободному проникновению воды в бислой фосфолипидов и улучшению его текучести. Кроме того, повышение доли ДГК в мембранах клеток с высокой метаболической активностью способствует улучшению работы мембрано – связанных ферментов и ионных каналов [21]. Указывается и выраженное влияние ДГК на работу митохондрий: на гомеостаз кальция, активность перекисного окисления липидов, апоптоз митохондрий [22]. ЭПК и ДГК не синтезируются в организме человека *de novo*, однако могут быть получены из АЛК путём ферментных модификаций элонгазами, дельта-3 и –5-десатуразами. Эти процессы могут протекать в очень незначительной степени в ткани сердца и головного мозга, в несколько большей степени – в печени. Однако их суммарный эффект едва достигает 9% потребности в этих длинноцепочечных жирных кислотах. Показано, что только достаточное количество полиненасыщенных жирных кислот (всего спектра, а не только входящих в витамин F) в пище покрывает потребность в них организма [23]. При разработке диет с целью профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, следует учитывать содержание омега-3 и –6 жирных кислот в продуктах питания. В табл. 3 приведены наиболее богатые ими компоненты пищи. Из таблицы можно заключить, что основными их источниками служат

труднодоступные продукты питания – редкие животные северных морей. Такой стереотип питания доступен лишь эскимосам Гренландии, у которых и был выявлен европейца исключение составляет только растительная альфа-линоленовая кислота. Однако и она при хранении масел и приготовлении с ними пищи быстро окисляется. Кардиологическими обществами Европы и США параллельно с пониманием патогенеза атеросклероза и осознанием ведущей роли в его развитии внешних факторов риска, была сформулирована концепция здорового питания. Она основана на так называемой средиземноморской диете и рекомендована по сей день как важное профилактическое средство [24]. В последующем, однако, было признано, что одной диеты может быть недостаточно, к ней необходимо добавлять недостающие вещества. Эта тенденция реализовалась в двух направлениях: биологически активные добавки и обогащённые нормальные пищевые продукты [25]. К пищевым добавкам относят различные препараты на основе рыбьего жира и жирных кислот в форме желатиновых капсул. Маргарины и спреды могут быть источниками полиненасыщенных жирных кислот в рационе. Согласно обзору ВОЗ, потребление жира велико в экономически развитых странах, причём с ростом благосостояния населения общая доля жиров и, в частности, насыщенных жирных кислот, увеличивается. Доля последних достигает 40% от общего количества жира в пище. Согласно «пищевой пирамиде», рекомендованной ВОЗ в 2002 году во втором пересмотре, суточный рацион не должен включать в себя более 30% жиров, причём 6–10% их количества должны составлять омега-3 и омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты. В пересчёте на стандартную потребность 2500 ккал в сутки, ежедневно нужно потреблять до 6–7 граммов омега-6 и до 2 граммов омега-3 жирных кислот [26, 27]. Такое количество довольно трудно получить из обычных продуктов питания, многие из которых содержат в большом количестве также и трансизомеры жирных кислот.

Наиболее распространенные полиненасыщенные ЖК (ПНЖК)

Тривиальное название	Систематическое название	ω 1	Δ 2
Сорбиновая	транс, транс-2,4-гексадиеновая	6:2 ω 3	6:2 Δ 2,4
Линолевая	цис, цис-9,12-октадекадиеновая	18:2 ω 6	18:2 Δ 9,12
Линоленовая	цис, цис, цис-6,9,12-октадекатриеновая	18:3 ω 6	18:3 Δ 6,9,12
Линоленовая	цис, цис, цис-9,12,15-октадекатриеновая	18:3 ω 3	18:3 Δ 9,12,15
Арахидоновая	цис-5,8,11,14-эйкозотетраеновая	20:4 ω 6	20:4 Δ 5,8,11,14
Дигомо- γ -линоленовая	8,11,14-эйкозатриеновая	20:3 ω 6	20:3 Δ 8,11,14
-	4,7,10,13,16-Докозапентаеновая	20:5 ω 4	20:5 Δ 4,7,10,13,16
Тимнодоновая	5,8,11,14,17-Эйкозапентаеновая	20:5 ω 3	20:5 Δ 5,8,11,14,17
Цервоновая	4,7,10,13,16,19-Докозагексаеновая	22:6 ω 3	22:3 Δ 4,7,10,13,16,19
-	5,8,11-эйкозатриеновая	20:3 ω 9	20:3 Δ 5,8,11

Примечание ω – номенлатура, нумерация атомов углерода с СНЗ-конца; Δ – номенлатура, нумерация атомов углерода с СООН-конца.

Увеличение случаев сердечных болезней, связанных с возросшим употреблением гидрированных растительных жиров, привело к запрету транс-жиров в некоторых странах [12]. Вред транс-жирных кислот может объяснить тот факт, что насыщенной транс-кислоты - элаидиновой - температура плавления 43,7 °С, а цис-изомера олеиновой - 16,2 °С. Для сравнения: насыщенная стеариновая кислота с тем же количеством атомов углерода (С18) обладает температурой плавления 69,6°С. Следует вывод: из двух

ненасыщенных кислот, содержащих 18 углеродных атомов, и двойную связь у 9-го углеродного атома, элаидиновая по свойствам более схожа с насыщенной жирной кислотой. Элаидиновая кислота является одной из распространённых транс-ЖК, применяемых в процессе приготовления продуктов. Было установлено, что она ингибирует активность десатураз, из-за чего ухудшается конвертация линолеиновой кислоты в арахидоновую. Кроме того, транс-ЖК являются причиной воспалений и кальцинации артериальных клеток, что увеличивают риск инфаркта миокарда [22].

Биологическая роль жирных кислот

Жиры (триацилглицериды) — наиболее важный резерв энергии в организме животных и человека. Они хранятся, главным образом, в клетках жировой ткани, адипоцитах [33] и там же протекают основные процессы их синтеза и деградации.

В основном ЖК мы получаем извне или образуются в организме из других веществ, но незаменимых. ЖК должны поступать с пищей или синтезироваться в организме. ЖК являются необходимыми для синтеза жиров (липогенеза). В составе липопротеинов они переносятся из печени и кишечника. Липопротеинлипаза, находящаяся на поверхности эндотелиальных клеток кровеносных капилляров, отщепляет от этих липопротеинов ЖК (рис.2). В адипоцитах распад (липолиз) жиров катализируется гормоночувствительной липазой. Активность липазы регулирует содержание свободных ЖК, поступающих из жировой ткани, таким образом фермент регулирует, уровень ЖК в плазме.

ЖК из жировой ткани транспортируются в плазму крови в незтерифицированной форме. При этом растворяются в воде только короткоцепочечные, а менее растворимые ЖК с более длинными углеродными в воде, переносятся в комплексе с альбумином. Из плазмы крови ЖК поступают в ткани; здесь из них синтезируются жиры или за счет окисления вырабатывается энергия. Особенно интенсивен метаболизм ЖК в клетках печени (гепатоцитах).

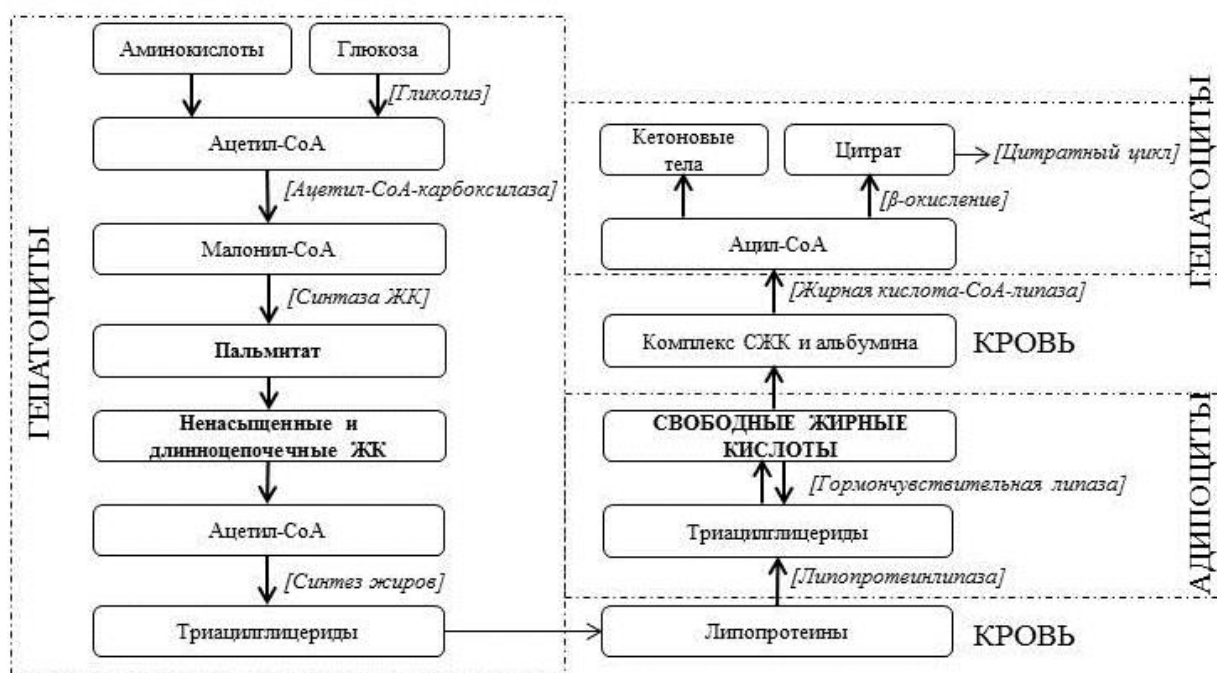


Рис.2 - Схема образования и деградации ЖК (Северин Е.С.2003)

В настоящее время определение индексов очень важны в диагностике различных заболеваний (диабет, кардиологические заболевания и др.), так как индексы являются показателем метаболизма клеток и могут стать ключом в понимании возникновения патологий и течения заболеваний.

Измерение профиля, помимо изменения суммарной концентрации СЖК позволяет количественно охарактеризовать содержание липидного состава крови. Например, ЖК семейства ω -6 не могут конвертироваться в ω -3 ПНЖК, и наоборот. Поэтому незаменимые ЖК конкурируют за одни и те же ферменты, которые осуществляют элонгацию и десатурацию, и непропорционально высокое количество линолевой кислоты в питании вызывает образование избытка соответствующих длинноцепочечных ЖК. Таким образом, ограничивается синтез производных α -линоленовой кислоты. Именно по этой причине адекватное соотношение линолевой и α -линоленовой ЖК имеет большее значение, чем их количественное содержание [37]. Стеарил-КоА десатураза (SCD), $\Delta 6$ -десатураза ($\Delta 6D$) и $\Delta 5$ - десатураза ($\Delta 5D$) катализируют эндогенный синтез длинноцепочечных ненасыщенных ЖК, которые

модулируют метаболические функции клетки (рис.3). Индекс активности элонгазы является показателем активности синтеза ЖК. Жирнокислотные индексы активности ферментов используются для оценки активности этих ферментов и как самостоятельный диагностический маркер. Например, активность SCD и соотношение ω -6/ ω -3 полиненасыщенных ЖК в крови связывают с риском возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, инсулинорезистентностью и пр. [38].

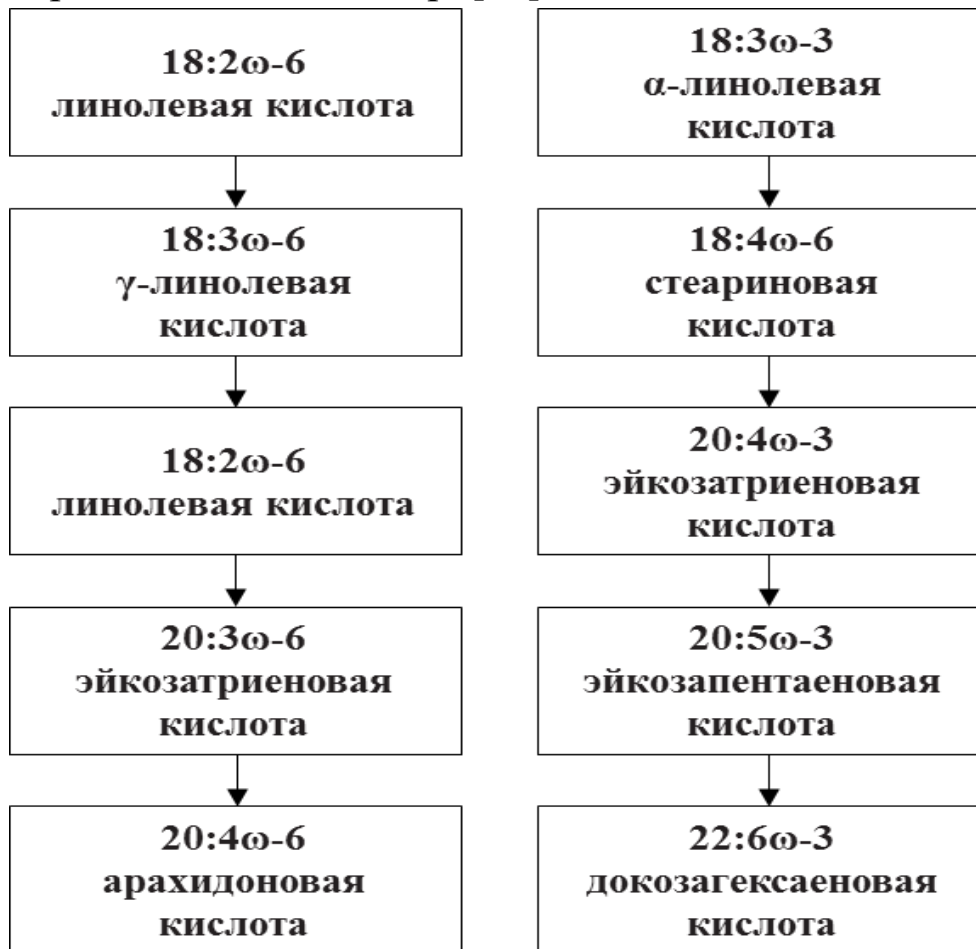


Рис.3 – Схема образования арахидоновой и докозагексаеновой кислот из незаменимых ЖК

Показано [39,40], что ω -6 ЖК обладают защитным действием против болезней сердца. Кроме снижения уровня ЛПНП, они также снижают кровяное давление. Авторы полагают, что высокое соотношение ω -6: ω -3 свидетельствуют о большом риске возникновения онкологических заболеваний. Возможные механизмы кардиопротекторных эффектов ω -3 ЖК заключаются в

понижении уровней триглицеридов, ослаблении аритмий, снижении кровяного давления, предотвращении агрегации кровяных телец [41] и пр. На лабораторных животных показано что диета, богатая омега-3 кислотами, снижало содержание липопротеинов низкой плотности [42] по сравнению с диетами, богатыми насыщенными ЖК, которые увеличивали их содержание [43].

Исследование профилей жирных кислот в медицине

Метаболизма ЖК может являться как следствием, так и причиной различных заболеваний. Липопротеины (комплексы липидов и белков) плазмы - крови главные транспортеры жиров и холестерина в организме. Нарушение их метаболизма может вызвать серьёзные проблемы в организме. Повышение содержания определённых липидов и липопротеинов плазмы увеличит риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [127]. Использование ЖК в качестве биомаркеров различных заболеваний осложняется множественностью причин изменения жирно-кислотного состава крови. Однако характерные изменения концентраций ряда ЖК в совокупности с другими биологическими молекулами (например, эйкозаноидами), потенциально могут служить биомаркерами для ранней диагностики различных заболеваний [200].

Онкологические заболевания

Опубликованы результаты исследований, связывающих некоторые онкологические заболевания и аномальные профили ЖК плазмы крови [201]. Быстро прогрессирующим раковым клеткам требуется питание липидами для построения мембран и протеиновых модификаций. Медленно прогрессирующим раковым клеткам тоже необходимо увеличенное количество липидов для активации сигнальных путей и развития устойчивости к апоптозу [47,48]

Независимо от онкогенеза, многие разновидности рака обладают общим механизмом, характеризующимся

иммуносупрессией и активизацией провоспалительных сигнальных клеток. На этом основании сделан вывод о возможном использовании ω -3 ПНЖК, действие которых направлено на ингибирование воспалений: в онкологии они могут быть полезны в качестве онкомаркеров [200]. Исследовали при многих видах рака повышается экспрессия генов вовлечённых в липогенез это является общим биохимическим признаком для многих видов рака, некоторые раковые клетки не используют ЖК поступающей с пищей [102]. Поэтому в настоящее время активно исследуют взаимосвязь между нарушениями метаболизма ЖК и возникновением онкологических заболеваний.

Высокое содержание липидов в пище и нарушение метаболизма эндогенных ЖК могут вызывать воспаления с высоким канцерогенным риском, а нарушения метаболизма арахидоновой кислоты является причиной развития воспалительных реакций.

Исследована связь повышенной концентрации СЖК в крови больных с развитием рака груди [54]. Установлена связь между жирнокислотным составом эритроцитов и риском возникновения рака простаты [55,56]: определение концентраций индивидуальных ЖК, а также их традиционных групп показал обратно-пропорциональную зависимость между общим содержанием мононенасыщенных ЖК и риском развития рака. Выявлена интересная корреляционная зависимости, между так называемым, западным образом жизни (высококалорийная еда, богатая насыщенными жирами, белками животного происхождения и рафинированными углеводами) и высокой заболеваемостью раком простаты. У таких больных, помимо всего, были выявлены нарушения метаболизма ЖК [157].

В онкологии определены некоторые общие тенденции изменений липидных профилей плазмы крови у больных, однако ряд противоречий пока не позволяет прямо показатели жирнокислотного состава крови в диагностике. Так как различные типы раковых заболеваний обладают неодинаковыми путями получения и использования липидов крови [201].

Заболевания сердечно-сосудистой системы

Увеличение содержания определённых липидов и липопротеинов плазмы является маркером риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [44]. ЖК и эйкозаноиды являются важными компонентами липидов сигнальных молекул, вовлеченных в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний [58].

В США по некоторым оценкам синдром внезапной сердечной смерти, составляет около 50% от смертностей всех сердечных заболеваний в США [160]. Одним из важных биомаркеров таких заболеваний является уровень СЖК в крови. Выявлено [121] значительное повышение СЖК в плазме крови людей при острых сердечных приступах.

Результаты определения ЖК в фосфолипидах показали, что пониженное содержание n-3-ПНЖК может быть связано не только с ишемическими, но и геморрагическими повреждениями головного мозга. Исследование образцов плазмы крови у таких больных, выявило, что суммарная концентрация n-3-ПНЖК, а также содержание отдельных кислот (докозагексаеновой и эйкозапентаеновой) ниже, чем у здоровых людей. Механизмы, ишемических болезней до конца не изучены, и определение жирно-кислотного состава крови может дать ответы на эти вопросы [162].

Сахарный диабет

Одно из важных направлений изучения жирно-кислотного состава крови связано с диабетом [63]. Сахарный диабет - наиболее распространённое заболевание, вызванная нарушением обмена веществ. Сегодня это серьёзная проблема здравоохранения из-за его высокой распространённости. Основные осложнения при диабете - гипергликемия, дислипидемия и артериальная гипертензия, что, в свою очередь, увеличивает риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [164].

Описаны [164] описаны факторы как генетической предрасположенности к заболеванию, так и влияние питания. Определили, что, потребление большого количества насыщенных

жиров вызывает риск заболевания даже при отсутствии генетической склонности.

Инсулинорезистентность и нарушение обмена липидов - характерные черты диабета 2 типа и диабетической нефропатии (ДН) [65]. Дисфункция органов вследствие избытка СЖК в крови получила название «липотоксичность» [66]. Дефицит инсулина и повышенный уровень СЖК тесно взаимосвязаны [67]. С одной стороны, вследствие дефицита инсулина усиливается липолиз, снижается синтез липидов и повышается содержание СЖК. С другой, высокий уровень СЖК усиливает тяжесть диабета вследствие снижения секреции инсулина [3,7,67]. Кроме того, избыток СЖК может вызвать воспалительный процесс и апоптоз β -клеток. Этот феномен получил название "липоапоптоз" [169]. Динамика уровня ЖК отражает развитие заболевания; постепенный переход от диабета к разным стадиям ДН сопровождается повышением или понижением уровня СЖК и ЭЖК в крови. Причем, эти флуктуации иллюстрирует механизм самовосстановления клеток и органов [66,70], а изменения СЖК являются следствием метаболической саморегуляции ЭЖК [71]. Так, для начальной стадии диабета характерно повышение уровня СЖК и снижение - ЭЖК. По мере прогрессирования диабета вплоть до стадии ДН3, уровень СЖК остается неизменно повышенным, тогда как уровень ЭЖК растет, предотвращая рост СЖК; при этом, избыток СЖК поступает в нежировые ткани. СЖК (наряду с глюкозой) подавляют экспрессию гена инсулина и уменьшают его секрецию, но делают это опосредованно [72]. При этерификации СЖК образуются, в частности, церамиды, воскообразные липиды, состоящие из сфингозина (2-амино-4-октадецен-1,3- диол) и жирной кислоты.

Церамиды в больших концентрациях присутствуют в клеточных мембранах, составляя основу сфинголипидов (например, сфингомиелина), класса фосфолипидов клеточных мембран. Церамиды участвуют во внутриклеточной сигнализации, регулируя дифференцировку, пролиферацию и программируемую клеточную гибель клеток [41,73]. Метаболическое профилирование ЖК

оказалось очень перспективным методом, который может повысить чувствительность и специфичность диагностики, дискриминировать диабет 2-го типа от различных стадий ДН.

Миопатия

Нарушение последовательных процессов распада ЖК может явиться причиной заболеваний, которые сопровождаются тяжелыми осложнениями, и даже, со смертельным исходом. Это широкий спектр клинических расстройств, включая миопатию, которая развивается вследствие накоплению липидов, прогрессирующую кардиомиопатию, рецидивирующую гипогликемическую энцефалопатию или Рейе-подобный синдром, судороги, психические торможения. Для диагностики таких заболеваний применяют метод определения степени окисления дейтерированного пальмитата [$1-^{14}\text{C}$], октаноата и бутирата, дейтерированной олеиновой кислоты в фибропластах. С их помощью устанавливают специфику нарушений окисления ЖК [76].

Роль жирных кислот при развитии атеросклероза

Атеросклероз - хроническое заболевание, которое развивается вследствие нарушения липидного обмена и накопления холестерина в интиме крупных и средних артерий, в ответ на реактивную пролиферацию и разрастание соединительной ткани в интиме сосудов. Сердечно-сосудистые заболевания, особенно ишемическая болезнь сердца (ИБС) - самые распространенные заболевания во всем мире: «...более 50% смертности выпадает на долю именно этой патологии. Особую тревогу вызывает то, что значительно увеличивается частота заболеваемости и смертности лиц молодого и трудоспособного возраста» [35; с. 17-20, 115; с. 2375-2414, 116; с. 227-239]. Поэтому профилактические мероприятия, направленные по ССЗ, имеют общегосударственное значение. Разработка высокоэффективных методов профилактики, доклинической диагностики и терапии атеросклероза пока ещё актуальная и трудно решаемая научная и медико-социальная задача. Совершенно

очевидно, что гиперхолестеринемия превратилась в глобальную неинфекционную эпидемию. Поэтому, применение биологически активных добавок при лечении ССЗ, и оценка их действия на биохимические показатели настоятельно требует своего решения. Согласно данным ВОЗ, сердечно-сосудистые заболевания являются причиной 49% смертей в Европе, и 30% – причиной преждевременной смерти в возрасте до 65 лет [1]. Усилия системы здравоохранения в последние 20 лет позволили существенно снизить смертность, но в виду старения популяции распространённость ССЗ не уменьшается. Согласно филогенетической теории общей патологии [1], система липопротеинов (ЛП) — перенос в гидрофильной межклеточной среде гидрофобных жирных кислот (ЖК) и поглощение их клетками — претерпела на ступенях филогенеза 3 последовательных функциональных этапа [2].

1. Первый этап становления в филогенезе липопротеинов. Перенос ЖК (эссенциальных ненасыщенных — ННЖК, полиеновых — ПНЖК в гидрофильной среде в полярных липидах в ЛП высокой плотности (ЛПВП) происходит при пассивном поглощении их клетками. ЛПВП стали переносить ННЖК + ПНЖК в полярных эфирах со спиртом глицерином, в фосфолипидах. Поглощение ЖК клетками происходило пассивно — переэтерификация (обмен) между фосфолипидами мембраны клеток и ЛПВП. Обратно (от клеток к энтероцитам) ЛПВП переносят спирт холестерин (ХС) в форме опять-таки полярного стерола. Синтезируют стерол все животные клетки в биологической реакции краткосрочной адаптации. Способность аполипопротеина (апо)А-I связывать полярные липиды низка; в ЛПВП — бислое, структуре белок—липид липидов всегда мало. В силу физико-химических различий перенос в межклеточной среде и поглощение клетками насыщенных ЖК (НЖК) + мононенасыщенных (МЖК), ННЖК + ПНЖК происходит отдельно. В паракринном сообществе энтерцитов одновременно с этерификацией ННЖК + ПНЖК в полярные фосфолипиды, из которых апоА-I формирует ЛПВП и секретирует их в межклеточную среду. В канальцах эндоплазматической сети

происходит этерификация НЖК + МЖК в неполярные ТГ (ТГ) с трехатомным спиртом глицерином. Из пальмитиновых и олеиновых ТГ, апоВ-48 и микросомальный белок, переносящий ТГ, формируют в энтероцитах апоВ-48-ЛП — гидрофобные комплексы белок—липид [3]. Энтероциты секретируют их в лимфатические локальные сосуды внутри паракринного сообщества. Лимфоток переносит ТГ в рамках одного паракринного сообщества — от энтероцитов к жировым клеткам рыхлой соединительной ткани (РСТ). Согласно филогенетической теории общей патологии, каждое паракринно регулируемое сообщество клеток *in vivo* состоит из трех функционально разных пулов: специфичных клеток, которые определяют функцию сообщества, локального перистальтического насоса — артериолы мышечного типа, который реализует биологические функции трофологии, гомеостаза и адаптации, и пула клеток РСТ [1]. Последние регулируют функцию сообщества путем синтеза гуморальных медиаторов, запасания субстратов для наработки клетками энергии. Клетки РСТ в паракринном сообществе энтероцитов после еды поглощают из лимфотока все ТГ, депонируют их в цитозоле жировых клеток сальника, реализуя биогическую реакцию экзотрофии. В этой же реакции эндотрофии (вне приема организмом пищи) жировые клетки паракринного сообщества энтероцитов гидролизуют запасенные в ТГ НЖК + МЖК. В межклеточную среду жировые клетки секретируют ЖК в форме полярных, неэтерифицированных ЖК (НЭЖК). Гидролиз пальмитиновых и олеиновых ТГ в жировых клетках активизирует гормонозависимая липаза. Секретированные в межклеточную среду НЖК + МЖК в форме НЭЖК связывает липидпереносящий альбумин. Так, на ранних ступенях филогенеза, на первом этапе становления ЛП, все ЖК (НЖК, МЖК, ННЖК и ПНЖК) переносятся в межклеточной среде полярными липидами, а клетки поглощают их пассивно, по градиенту концентрации. Компоненты паракринного сообщества (энтероциты + жировые клетки РСТ) далее, в процессе филогенеза стали прародителями тонкой кишки и сальника — висцерального пула жировых клеток. Оба компонента как

синергисты, реализуют биологическую функцию трофологии (питания): только энтероциты — биологическую реакцию экзотрофии — запасание ЖК пищи, а жировые клетки сальника — биологическую реакцию эндотрофии, расходуя запасенные ЖК вне приема пищи.

2. Второй этап становления системы липопротеинов. При совершенствовании биологических функций *in vivo*, переноса ЖК в полярных липидах (глицеридах) и пассивного поглощения ЖК клетками стало недостаточно. Начался перенос ЖК в иных ЛП в эфирах ЖК со спиртом глицерином, со спиртом ХС (полиэфиры ХС — поли-ЭХС) и активное (против градиента концентрации) рецепторное поглощение клетками ЖК. Перенос в межклеточной среде и поглощение клетками НЖК + МЖК и ННЖК + ПНЖК и на втором этапе происходит отдельно. Это определено их физико-химическими различиями и тем, что содержание в пище ЖК соотносится следующим образом: пальмитиновая НЖК + олеиновая МЖК — 100; линолевая + линоленовая ННЖК — 10; ω -6 и ω -3 эссенциальные ПНЖК — 1. Физиологически отношение ω -6/ ω -3 составляет 3:1, 5:1 [4]. Для переноса к клеткам существенно большего количества ЖК, особенно НЖК + МЖК, и для реализации новых и более совершенных биологических функций необходимы ЛП с более высокой производительностью, поэтому в филогенезе осуществлен синтез иных апо, которые переносят ЖК в неполярных липидах и формируют лиганды для связывания с рецепторами на мембране и активное поглощение клетками ЛП. Несмотря на синтез новых апо, функция апоА-I и ЛПВП не только продолжена, но и получила развитие. ЛПВП сформировали новые функции — перенос ЖК в неполярных липидах и активное рецепторное поглощение клетками ННЖК + ПНЖК; сохранили эти функции приматы и человек. Согласно принципу биологической преемственности, становление в филогенезе биологических функций и реакций происходит не путем «революционных» преобразований, что свойственно мутация.

В середине XX века, когда стала подтверждаться взаимосвязь между высоким уровнем холестерина крови и развитием атеросклероза. Одним из путей борьбы с такой ситуацией стала разработка маргарина, содержащего полиненасыщенные жирные кислоты. В 1960-е годы в Нидерландах компанией Unilever был разработан спред Vesel. За счёт правильно подобранного соотношения подсолнечного и льняного масел, входящих в состав данного продукта, Vesel отличается от других спредов низким содержанием насыщенных жиров и высоким - омега-3 и омега-6 кислот в оптимальном для человека соотношении.

В мире проводятся исследования эффективности воздействия биологически активных добавок на молекулярные механизмы развития экспериментальной гиперхолестеринемии. Но, к сожалению, многие аспекты этого процесса полностью не раскрыты. Особенно важные из них - состояния показателей липидного обмена; содержание апопротеина В, жирнокислотного состава крови, а также морфоструктурные изменения печени в динамике развития экспериментального атеросклероза.

Таким образом исследования молекулярно-клеточных механизмов действия различных препаратов на гиперхолестеринемия (ГХС) показали, что её лечение представляет многогранную проблему. Она определяется множеством предполагаемых лекарственных средств, их недостаточной эффективностью из-за сложного патогенеза заболевания. патогенетические и молекулярные механизмы действия лекарственных средств местного производства, в частности биологически активных добавок, на основе ростков пшеницы, недостаточно изучены [46; с. 88-89,68; с. 80,35; с. 17-20]. По данным публикаций, содержание насыщенных и ненасыщенных жирных кислот и их соотношение в аполипопротеинах влияет на их антиатерогенные свойства. Повышение же содержания в крови насыщенных жирных кислот удлиняет период полураспада липопротеинов низкой плотности, вызывает их окисление, гликозируются и накопление в интиме сосудов, и далее ведёт к развитию атеросклероза [82; с. 276-294,91; с. 791-795,184; с. 517-523,185; с. 86-92].

ГЛАВА I. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О РАЗВИТИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Роль апопротеинов в развитии атеросклероза

Разработка высокоэффективных методов профилактики, доклинической диагностики и терапии атеросклероза остается одной из наиболее актуальных научных и медико-социальных проблем, которые нуждаются в глубоком и всестороннем изучении. В настоящее время совершенно очевидно превращение гиперхолестеринемии в глобальную неинфекционную эпидемию. По данным Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, в 2014 год, на 100 тыс. населения болезни системы кровообращения составляют около 5800 чел., причем распространенность их увеличивается. Наиболее частой причиной смерти людей является ишемическая болезнь сердца (ИБС), от которой в год погибают 22300 чел. [22; с. 111-116].

По результатам популяционных исследований, среди населения республики более 26% лиц в возрасте старше 40 лет страдают гипертонической болезнью (ГБ), около 11% – ИБС [26; с. 10-12]. ССЗ, которые являются наиболее частой причиной смертности (56%) и инвалидизации (25%) населения, наносят ощутимый вред здоровью нации и бюджету государства.

Проблема этой патологии также остро стоит во всём мире [65; с. 15-17]. Она- причина более 50% от общего числа смертей. Особую тревогу вызывает тот факт, что, среди заболевших растет число молодых и трудоспособных лиц [26; с. 10-12,35; с. 17-20].

Решающее значение в снижении частоты ИБС отводится широко проводимым мероприятиям по борьбе с факторами риска (ФР) в амбулаторном звене здравоохранения. Реформа здравоохранения, осуществляемая в Узбекистане (организация сельских врачебных пунктов и семейных поликлиник) создала реальные возможности для осуществления первичной и вторичной профилактики, в том числе и сердечно-сосудистых заболеваний [2; с. 15-18,12; с. 108-113].

Важную роль в патогенезе атеросклероза и ишемической болезни сердца играет ГХС [18; с. 18,13; с. 145-149, 28; с. 141-146, 36; с. 9-15]. Назначение препаратов, снижающих уровень холестерина, является приоритетным в терапии ИБС и ГХС [16; с. 4,147; с.1336-1346]. Наиболее эффективны в снижении уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) и смертности от атеросклероза и ИБС - ингибиторы 3-гидрокси-3-метил-глутарил-СоА редуктазы [74; с. 2176-2180,108; с. 2486-2497]. Однако у многих статинов эффективная терапевтическая суточная доза обуславливает возникновение побочных эффектов – повышение уровня печеночных ферментов аспаргиновой и аланиновой трансаминаз (АЛАТ, АСАТ), миалгию, миопатию с увеличением содержания креатинфосфокиназы (КФК) [160; с. 225-231]. Поэтому ведется поиск новых препаратов, которые можно назначать в более низких суточных дозах, более безопасных, пролонгированного действия и эффективных по снижающему уровень холестерина действию. С каждым годом увеличивается количество исследований, направленных на поиск альтернативных гиполипидемических средств. Среди последних ведущее место занимают препараты природного происхождения.

Атеросклероз – развивается при дефиците внутри клеток ω -6 и ω -3 полиненасыщенных жирных кислот, происходит выраженный недостаток образования аминоФЛ и нефизиологический, компенсаторный синтез филогенетически ранних гуморальных медиаторов эйкозаноидов первой группы как регуляторов метаболизма [33; с. 37-40,103; с. 11306-11310]. Определение роли холестерина в патогенезе атеросклероза многие эксперты считают одним из величайших достижений медицины XX века [140, с. 164-171,104; с. 273-281]. Долгое время развитие кардиологии заключалось в изучении сердца и его болезней. Вопросы физиологии и патологии сосудов – другого важнейшего звена - кровообращения – не попадали в поле зрения клиницистов. Все более актуальным становятся исследования, направленные на выявление препаратов растительного происхождения, которые будут воздействовать на

восстановления метаболизма и оптимальной перфузии тканей. Для достижения этой цели необходим детальный анализ биохимической природы сосудистой дисфункции [33; с. 37-40]

Показано, что при ишемии сочетанно нарушается обмен липидов, липопротеинов (ЛП), углеводов, развиваются системное воспаление и окислительный стресс [19; с. 688]. При этом роль жирных кислот и альдегидов жирных кислот (ЖКА) в плазме и эритроцитах крови обусловлена их участием в обменных процессах, формировании клеточных мембран, а также тем, что они являются субстратом в процессах оксигенации липидов и предшественниками в синтезе простагландинов [32; с. 3-19, 58; с. 672,130; с. 1766-1779,85; с. 11-22].

Во многих профилактических рандомизированных программах показано, что медикаментозные воздействия, направленные преимущественно на снижение уровня в крови ЛНП, наиболее эффективно снижают риск развития и клинических осложнений коронарной болезни сердца (КБС). Поэтому принято считать, что ЛНП играют важную роль в развитии атеросклероза.

В свою очередь, высокий уровень ХС ЛВП оказывает защитный эффект на сердечно-сосудистую систему. В крупных исследованиях (около 5600 пациентов) было показано, что низкий уровень ХС ЛВП является предиктором смертности от КБС и развития новых случаев сердечно-сосудистых событий у пациентов старше 70 лет [108]. Высокое содержание ТГ в крови также сопряжено с повышенным риском КБС [67; 170]. Роль аполипопротеинов в прогрессировании атеросклероза и прогнозировании риска КБС изучена в ряде клинических и эпидемиологических исследований. Установлено [125], что повышенное ($>1,0$) соотношение аполипопротеин (апо). В/аполипопротеин (апо) А1 является одним из основных факторов риска развития ИМ.

В многочисленных рандомизированных многоцентровых исследованиях доказано: статины достоверно снижают ХС ЛНП; на уровень ХС ЛВ они влияют умеренно или не влияют вовсе. Тем не

менее, их влияние на субфракции ХС ЛВП и ХС ЛНП изучено недостаточно.

Липопротеин (а) (ЛП(а)) является генетически детерминированной частицей ЛНП с уникальной аполипопротеин (а) молекулой, которая потенцирует прогрессирование атеросклероза [109]. Концентрация ЛП(а) в сыворотке крови между индивидуумами остается стабильной. Но она минимально реагирует на изменения окружающей среды и поведенческих факторов и подвержена влиянию липидснижающей терапии [303]. Также показано, что высокий уровень ЛП(а) может увеличивать риск ССЗ независимо от уровня ХС ЛНП [225]. ЛП(а) считается фактором риска ССЗ поэтому его широко изучали в течение многих, особенно последних лет. Но, тем не менее вопрос о важности ЛП (а) как независимого фактора риска ССЗ получил противоречивые решения настоящего времени [99]. Одни исследователи показывали, что ЛП(а) может инициировать процесс атеросклероза [167] и возможно развитие тромбоза при очень высоком уровне [91], другие - не подтверждают независимый вклад ЛП(а) в развитие сердечно-сосудистого риска [234]. В то же время, показана связь между уровнем сывороточного ЛП(а) и тяжестью КБС. Китайские ученые установили, что высокое содержание сывороточного ЛП(а) у пациентов с СД является предиктором тяжести КБС по шкале GS: отмечалась положительная корреляция между уровнем сывороточного ЛП(а) и баллами по шкале GS [99]. Уровень ЛП(а) достоверно увеличивается соответственно терцилям по шкале GS у пациентов с СД. Установлена также выраженная ассоциация между уровнем ЛП(а) и наличием КБС. Yazıcı и соавт. доказали важность ЛП(а) в патогенезе высокого риска развития нестабильной стенокардии [307]. Langsted и соавт. продемонстрировали, что при высоком уровне ЛП(а) можно прогнозировать КБС и ИМ в популяции. Причем, такая возможность не зависит от потребляемой здоровой пищи, однако минимально увеличивается при высоком уровне вчСРБ [193]. Ассоциации между уровнем ЛП(а) и ССС у женщин менее выражены, чем у мужчин, вероятно из-за кардио и

вазопротективного эффектов эстрогенов у женщин [191]. С другой стороны, в нескольких исследованиях отмечена корреляция ЛП(а) с тяжестью КБС. Motiyama и соавт. В исследовании 143 пациентов с коронарным атеросклерозом и атеросклерозом аорты установили, что уровень ЛП(а) увеличивается с увеличением количества стенозированных сосудов [211].

Субфракционное распределение липопротеинов низких плотностей как характеристика их атерогенности.

ЛНП представляют собой гетерогенные субфракции, различающиеся по размеру, плотности и содержанию белков/липидов [78; 92; 188]. Уменьшение размера и увеличение плотности ЛНП ассоциировано с высоким сердечно-сосудистым риском. По размеру и плотности выделяют субфракции ЛНП: основные подфракции – крупные (ЛНП1) и средние (ЛНП2) частицы, минорные подфракции – более плотные и мелкие частицы (наиболее часто из них встречаются частицы ЛНП3, реже еще более мелкие и плотные (ЛНП4-ЛНП7). Мелкие плотные частицы ЛНП3-7 более атерогенны благодаря их высокой способности проникать сквозь эндотелиальный слой, сниженному средству к ЛНП – рецепторам тканей и печени, что приводит к пролонгированному присутствию их в крови, повышенной способности к окислению [78].

Согласно современным представлениям, существует несколько механизмов образования субфракций ЛНП. В результате действия липопротеинлипазы на поверхности сосудистого эндотелия происходит гидролиз ТГ липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП). Последние превращаются вначале в меньшие по размеру и обогащенные ХС липопротеины промежуточной плотности (ЛПП), а затем в ЛНП, богатые ХС. Внутрисосудистое образование ЛНП из печеночных ЛОНП является ключевой чертой метаболизма ТГ-богатых липопротеинов [98]. Возможна и прямая секреция частиц ЛНП печенью. Некоторые исследователи, говоря о структурной гетерогенности фракции ЛНП, по характеру распределения

субфракций ЛНП выделяют два фенотипа: фенотип А с преобладанием крупных частиц ЛНП1 и фенотип В – мелких плотных частиц ЛНП3-7. Частицы ЛНП типа А имеют диаметр 26-27 нм, низкую плотность (1,025-1,038 г/мл) и подразделяются на три субкласса: ЛНП1, ЛНП2, ЛНП3. У людей с типом В частицы ЛНП имеют меньший диаметр (<25 нм), большую плотность (>1,038 г/мл), они составляют 2 субкласса: ЛНП4 и ЛНП5 [126; 150]. Частицы ЛНП содержат 1 молекулу апо В 100 и разное количество липидов, которое может занимать около 70% массы мелких плотных частиц ЛНП и около 80% - легких больших ЛНП (Рис. 4).

Тип А Тип В

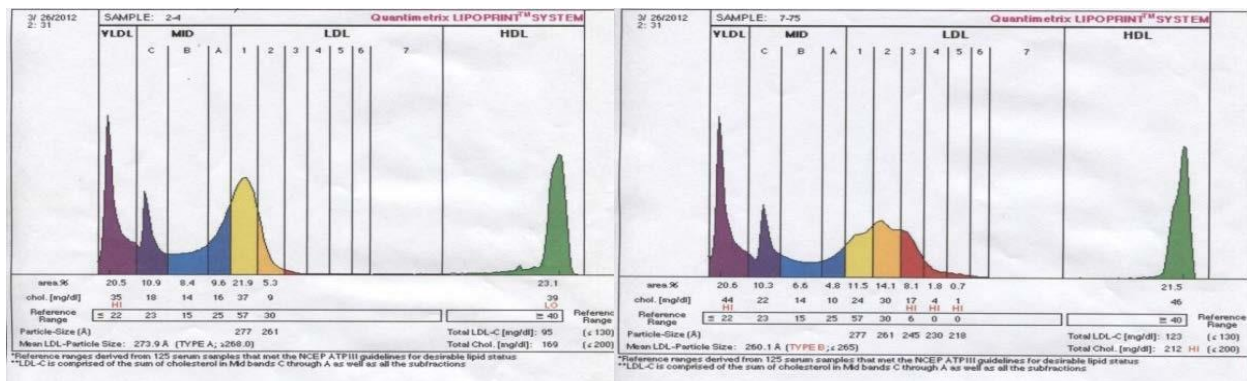


Рисунок 4- Субфракционный спектр липопротеинов низкой плотности

По структуре и способам метаболизма ЛНП могут быть разделены минимум на 3 большие субфракции (Таблица 2).

Крупные легкие частицы ЛНП являются предшественниками средних и мелких плотных частиц ЛНП у здоровых людей. Среди этих субфракций средние ЛНП имеют более высокое сродство к апо В, Е-рецепторам клеток *in vitro*. Конформация апо В в них - оптимальна для связывания с рецептором и, поэтому, в плазме крови ЛНП катаболизируются преимущественно именно за счет средних частиц ЛНП [97]. Таким образом, средние субфракции ЛНП играют большую роль в гомеостазе ХС.

Таблица 2 Физико-химическая характеристика основных субфракций ЛНП [97]

Показатель	Субфракции ЛНП		
	Легкие, 27,0 нм	Средние, 26,0 нм	Плотные, 25,0 нм
Гидратированная плотность; г/мл	1,02-1,03	1,03-1,04	1,04-1,06
Объем частицы, нм ³ x 10	10,3	9,8	9,2
ХС/апоВ*	2750:1	2500:1	2100:1
Масса, x 10 ⁻⁶	3	2,6	2,3

*Примечание: * общее количество молекул ХС (эфирь ХС+свободный ХС) на одну частицу.*

Мелкие плотные ЛНП, в отличие от больших легких и средних частиц ЛНП, слабо связываются с апо В, Е-рецепторами *in vitro* [95]. Длительное время циркулируя в крови, они модифицируются (в том числе окисляются) и тем более не распознаются рецепторами. Поэтому, мелкие плотные частицы ЛНП считают наиболее атерогенными.

Мелкие плотные частицы ЛНП отрицательно коррелируют с уровнем ХС ЛВП плазмы крови и положительно - с концентрацией ТГ. Размер ЛНП может быть важным фактором, прогнозирующим сердечно-сосудистые события и прогрессирование КБС. Установлена независимая связь субфракций ЛНП с КБС [186]. Высказано предположение того, что терапевтическое воздействие на субфракции ЛНП может быть полезно при снижении атеросклеротического риска. Таким образом, определение размера ЛНП может быть ценно для клинических исследований и определения пациентов высокого риска КБС в, отличие от пациентов с некоронарными формами атеросклероза: поражение периферических артерий, каротидных артерий, аневризмы абдоминального отдела аорты. Скрининг наличия мелких плотных

частиц у пациентов с данными клиническими формами атеросклероза может выявить тех, кто имеет высокий сосудистый риск и нуждается в специфической антиатеросклеротической терапии [254].

Показано, что уровень мелких плотных частиц липопротеинов увеличивается с возрастанием степени каротидного стенозирования. Эти и являются независимым фактором риска ишемического инсульта у пожилых пациентов [269].

Отмечена отрицательная корреляция между толщиной слоя интимы-медиа (ТИМ) и размером ЛНП, однако статистически достоверной связи между ТИМ и концентрацией липидов плазмы выявлено не было. Множественный регрессионный анализ показал, что независимым предиктором различий в значении ТИМ был уровень диастолического АД (ДАД), размер ЛНП и возраст пациентов. Был сделан вывод о том, что размер ЛНП независимо ассоциирован с ТИМ у пациентов с КБС при нормальном уровне липидов крови. Таким образом, субфракции ЛНП могут служить важным предиктором атеросклероза и его прогрессирования [59].

Содержание мелких плотных частиц выше у пациентов с КБС независимо от пола, на фоне одинакового уровня ХС ЛНП. Ещё более оно увеличивается при увеличении количества пораженных коронарных артерий или при увеличении индекса GS. Мелкие плотные частицы играют более важную роль в прогрессировании КБС, чем размер ЛНП, поэтому их содержание может быть использовано в качестве суррогатного маркера для профилактики КБС. Следует отметить, что эти частицы ассоциированы с КБС независимо от традиционных и нетрадиционных факторов риска, однако не связаны с тяжестью и выраженностью коронарного поражения [173; 178; 188; 285]. У пациентов с высоким уровнем мелких плотных частиц ЛНП в 3-7 раз повышается риск развития КБС независимо от концентрации ХС ЛНП [178]. Это рассматривается как фактор риска развития КБС. Такое состояние называют атерогенной нормолипидемией [83; 228].

Спектр липопротеинов, определяют различными методами: градиентное ультрацентрифугирование, электрофорез в градиентном полиакриламидном геле, ядерный магнитный резонанс [72; 102; 291]. Но их затруднено, так как требует дорогостоящего оборудования и реактивов, а также анализ занимает много времени. Сегодня применяется эффективный метод [153], позволяющий разделить не только фракции отдельных классов липопротеинов, но и их субфракции, по размеру и заряду частиц (Липопринт ЛНП система).

Таким образом остается нерешенным вопрос, связаны ли особенности спектра липопротеинов плазмы крови (в том числе субфракционный спектр ЛПП и ЛНП) с наличием коронарного атеросклероза и его выраженностью.

Атеросклероз является следствием нарушения переноса в составе аполипопротеинов (апо) – апоВ-100 липопротеинов и поглощения клетками жирных кислот. Если жизнь – это способ существования белковых тел, то эфиры ЖК с трехатомным спиртом - глицерином в форме полярных фосфолипидов (ФЛ), неполярных триглицеридов (ТГ) и эфиров со спиртом холестерина – ХС (эфиров ХС) обеспечивают для этого все условия [57; с. 516-536].

Определяя содержание липидов в ЛП, можно определить параметры переноса в составе ЛП, активное и пассивное поглощение клетками ЖК, но не процессы метаболизма [86; с. 237-244,134; с. 17809-17820,146; с. 211-220,164; с. 321-328, 105; с. 509-510].

Связывание ЛПНП разных видов животных с Апо В-100-рецепторами фибробластов человека показало, что в филогенезе структура домена-лиганда Апо В-100 изменилась мало. С ЛПНП-рецепторами человека связывались ЛПНП морской свинки, кролика, медведя, льва; не было взаимодействия с ЛПНП крыс и мышей [43; с. 91-93,56; с. 316, 57; с. 516–536, 98; с. 441-452].

Установлено выраженное изменение конформации Апо В-100 в ЛПНП при их переносе к клеткам эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот (ЭСПНЖК). В гепатоцитах Апо В-100 формирует разные по гидратированной плотности ЛПОНП,

составленные из пальмитиновых, олеиновых, линолевых и линоленовых ТГ. При переносе ТГ к клеткам ЖК в составе ЛПОНП гидролизуется оптимальное количество неполярных ТГ, а содержание ЛПОНП – уменьшается. Изменение конформации Апо В-100 подтверждает и формирование разных Апо В-100-лигандов в составе ЛПОНП и ЛПНП. Параметры связанных Апо В-100-липидов в ЛПОНП и ЛПНП влияет на количество эпитопов: на поверхности. В секретируемых гепатоцитами в кровотоке ЛПОНП домена-лиганда Апо В100 на поверхности нет; он полностью экранирован избытком ТГ [54; с. 148-183;55; с. 5-17].

После гидролиза ТГ на их поверхности формируется кооперативный Апо Е/В – 100 – домен – лиганд, который инсулинозависимые клетки связывают Апо Е/В-100-рецепторами [7; с. 3-15]. Одновременно при гидролизе ТГ и их переносе ЛПНП из ЛПВП ЭСПНЖК, этерифицированных спиртом ХС, Апо В-100 конформацию, и на поверхности ЛПНП формируется Апо В-100-лиганд. Все клетки своими Апо В-100-рецепторами связывают его *in vivo* и активно поглощают лигандные ЛПНП [157; с. 187-188,126; с. 124-133,135; с. 116-122].

Рецепторный эндоцитоз является активным: клетки сами, на аутокринном уровне, регулируют количество рецепторов на мембране и поглощаемых ими ЛПОНП или ЛПНП [60].

В ЛП более 80% составляют олеиновые и пальмитиновые ТГ из всех ТГ. Постгепариновая липопротеинлипаза (ЛПЛ) в крови гидролизует ТГ, ассоциированные с Апо В-100; освобожденные незтерифицированные ЖК связывает альбумин [59;4-12 с, 112; с. 1363-1366].

При действии белка переносящего полиеновые эфиры ХС (БППЭХ), полярные диглицериды переходят в состав ЛПВП. Освободившись от избытка ТГ, Апо В-100, активизируясь. В плазме крови натошак физиологично не присутствует ни олеиновых, ни пальмитиновых ЛПНП: в них превращаются только линолевые и линоленовые ЛПОНП [50; с. 30-33,109; с. 1376-1384,111; с. 1466-1473]. Для активного рецепторного поглощения клетками

полиеновых ЖК они в форме полиеновых эфиров ХС (ПНЖК этерифицированных ХС) переходят из ЛПВП в состав линолевых и линоленовых ЛПОНП. Иницирует переход поли-ЭХС из ЛПВП в ЛПОНП белок, переносящий ЖК (БПЖК) [190; с. 5908-5915]. При употреблении пищи богатой пальмитиновыми НЖК, то доминируют пальмитиновые ТГ, в крови – пальмитиновые ЛПОНП. При этом скорость гидролиза пальмитиновых ТГ при действии постгепариновой ЛПЛ намного ниже, чем олеиновых ТГ [58; с. 672,113; с. 786-796]. В порядке возрастания скорости определена следующая последовательность: пальмитоил-пальмитоил-пальмитат → пальмитоил – пальмитоил – олеат → пальмитоил-олеил-пальмитат → олеил-пальмитоил-пальмитат → олеил – олеил – пальмитат → олеил – олеил – олеат (ППП→ППО→ПОП→ОПП→ООП→ООО).

Самая высокая скорость установлена образования фермента ООО - он практически не гидролизует трипальмитат (ППП). Температура плавления медленно гидролизуемого трипальмитата составляет 49°C. Различие температуры плавления между каждым последующим ТГ составляет приблизительно 10°C. При сдвиге «спектра» ТГ влево: а) увеличивает период сохранения высокого уровня ТГ после приема пищи; б) увеличивается содержание ХС ЛПНП; в) формируется атероматоз интимы артерий. Точка плавления ТГ как стеарил-стеарил-стеарат (ССС) составляет 63°C; *in vivo* гидролиза практически не происходит; проблемным является и гидролиз трипальмитата. При сдвиге «спектра», ТГ вправо укорачивается постпрандиальная гиперлипотеинемия и ускоряется поглощение клетками ЛПОНП. При медленном гидролизе ТГ, связанных с Апо В-100, последние не активизируются не формируют лиганд; ЛПНП не поглощают клетки путем АпоЕ/В-100-эндоцитоза. Пальмитиновые ЛПОНП, не освобождаясь от ТГ, медленно приобретают гидратированную плотность, такую же как у ЛПНП [139; с. 1999-2005]. Среди ЛПНП преобладают не физиологичные линолевые и линоленовые ЛПНП, а нефизиологичные пальмитиновые ЛПОНП→ЛПНП.

Избыточное содержание в пище пальмитиновой НЖК: [141; с. 617-624]:

а) нарушает поглощение клетками ПНЖК в форме поли-ЭХС в составе ЛПНП путем Апо В-100-эндоцитоза и формирует основу патогенеза атеросклероза – дефицит в клетках ПНЖК;

б) образует большой пул нефизиологичных безлигандных пальмитиновых ЛПОНП→ЛПНП; их клетки не могут поглотить рецепторным путем; в крови они становятся эндогенными флогогенами (по сути – «биологическим мусором»), нарушая биологическую функцию эндоэкологии. Удалить нефизиологичные ЛПНП могут только «клетки-мусорщики», оседлые макрофаги. Они поглощают и утилизируют все эндогенные флогогены и экзогенные патогены с помощью биологических реакций воспаления [97; с. 761-764,188; с. 55-61].

Артериолы мышечного типа интимы не имеют. Это доказывает, что только в артериях эластического и смешанного (эластически мышечного) типа стенка артерий состоит из трех слоев: а) монослой эндотелия; б) интима + медиа (слой гладкомышечных клеток); в) соединительно-тканная адвентиция [162, с. 1628-1633, 159; с. 5-10].

Патогенетически обоснованные методы лечения атеросклероза

В лечении атеросклероза перспективными считаются статины в сочетании с макро- и микроэлементами, которые участвуют в метаболических реакциях [30; с. 944].

Человечество не избавилось от атеросклероза, но постепенно уходит страх перед холестерином, а медицина сосредоточила усилия на поиске активных и безопасных гиполипидемических средств: в 50-60-е годы XX в. появились никотиновая кислота, клофибрат, холестирамин; в 80-х- в США начались широкомасштабные исследования статинов.

Статины (симвастатин, аторвастатин и др.) наиболее эффективно снижают уровень холестерина, блокируя фермент,

участвующий в его образовании. Их применяют, главным образом, при гиперлипидемии с повышенным уровнем холестерина при повышенном или нормальном уровне триглицеридов. Многоцентровые рандомизированные исследования не только показали высокую эффективность статинов в снижении гиперлипидемии, а также их способность снижать частоту смертности от заболеваний сердца и других сердечно-сосудистых осложнений на 24-42% [27, с. 12-20с.,121, с. 1149-1160, 169, с. 675-680].

Эффективность терапевтических свойств сока ростков пшеницы обусловлена его составом, в том числе, высоким содержанием хлорофилла, каротина, витаминов (А, С и Е), биофлавоноидов, железа, минеральных веществ (кальция, калия, натрия, цинка, меди, алюминия и магния), серы, фосфора и 17-ти аминокислот, 8 из которых – незаменимы [81; с. 43-48,100; с. 37-39,132; с. 291-294, 151; с. 23-28, 158; с. 113-124, ,79; с. 159-164,173; с. 10-14,187; с. 10-14].

Медикаментозная терапия дислипидемий

К препаратам, корригирующим нарушения липидного обмена, относятся статины, ингибиторы всасывания ХС в кишечнике (эзетимиб), секвестранты желчных кислот, фибраты, ниацин и препараты, содержащие омега-3ПНЖК [195;1169-1174с.]

1.Ингибиторы гидрокси-метилглутарил-КоА редуктазы (статины).

Статины – основной класс лекарственных средств, которые применяются для лечения пациентов с гиперлипидемией и атеросклерозом. В последние 15 лет проведены многочисленные клинические исследования со статинами. Выявлено достоверное снижение сердечно-сосудистой и общей смертности независимо от пола, возраста, исходного уровня ХС.

Механизм действия статинов основан на ингибировании активности ГМГ-КоА редуктазы в разной степени. По принципу

конкурентного ингибирования молекула статина связывается с частью рецептора коэнзима А, с которой взаимодействует этот фермент. Угнетение активности ГМГ-КоА редуктазы способствует снижению синтеза эндогенного ХС и в результате снижается его внутриклеточное содержание, из-за снижения образования холестерина в клетках повышается активность ЛНП-рецепторов и, соответственно, ускоряется катаболизм ХС ЛНП.

Статины обладают липидными и нелипидными (плейотропными) эффектами, к которым относят противовоспалительное, антипролиферативное и антиоксидантное действие. Снижение уровня ХС ЛНП зависит от дозы статина. Каждое удвоение дозы дополнительно снижает уровень ХС ЛНП на 6% (правило шести). Эффективность разных статинов в снижении уровня ХС ЛНП неодинакова. Но и у каждого пациента ответ на терапию статинами может быть различным. Влияние статинов на уровни ТГ и ХС ЛВП зависит от их исходных значений. Это связано с тем, что, наряду со снижением уровня ХС, статины интенсифицируют процесс катаболизма ЛПОНП и ЛНПД, в составе которых есть ТГ [17; с. 74]. Статины снижают уровень ТГ в среднем на 15-20%. Но их влияние на уровень ХС ЛВП до конца не изучено. Оно может быть связано как с ингибированием активности белка, переносящего эфиры холестерина, так и с уменьшением пула частиц ЛПОНП и ЛНПД в плазме крови вследствие их усиленного катаболизма. Было показано, что розува-, симва- и флувастатин в большей степени повышают уровень ХС ЛВП, чем другие статины: статины низкие и средние дозы эффективны на 6-10%. Статины не влияют на уровень Лп(а).

2. Ингибиторы абсорбции холестерина в кишечнике (эзетимиб).

Регуляция уровня ХС в крови зависит от трех механизмов метаболизма: всасывания пищевого ХС, синтеза эндогенного ХС и экскреции/реабсорбции билиарного ХС. Однако при избытке продукции и/или снижении катаболизма ХС он накапливается.

Разработан принципиально новый класс гиполипидемических средств – селективные ингибиторы абсорбции экзогенного и билиарного ХС.

Механизм действия эзетимиба.

Эффект эзетимиба основан на ингибировании абсорбции ХС и растительных стеролов которая осуществляется за счет блокирования переносчика экзогенного ХС, локализованного на щеточной каемке эпителия тонкой кишки. При этом препарат не угнетает абсорбцию в кишечнике жирорастворимых витаминов. Мишенью для эзетимиба является белок типа Ньюмана – Пика (the Niemann – Pick C1 like 1) Он переносит ХС в эпителий тонкой кишки. Он тормозит абсорбцию пищевого и билиарного ХС, в результате чего снижается содержание ХС в печеночной клетке, это приводит к компенсаторному увеличению числа рецепторов ЛПНП на поверхности гепатоцита активно идёт захват ЛПНП из крови, а это приводит к снижению концентрации ХС в плазме крови [8;74с.].

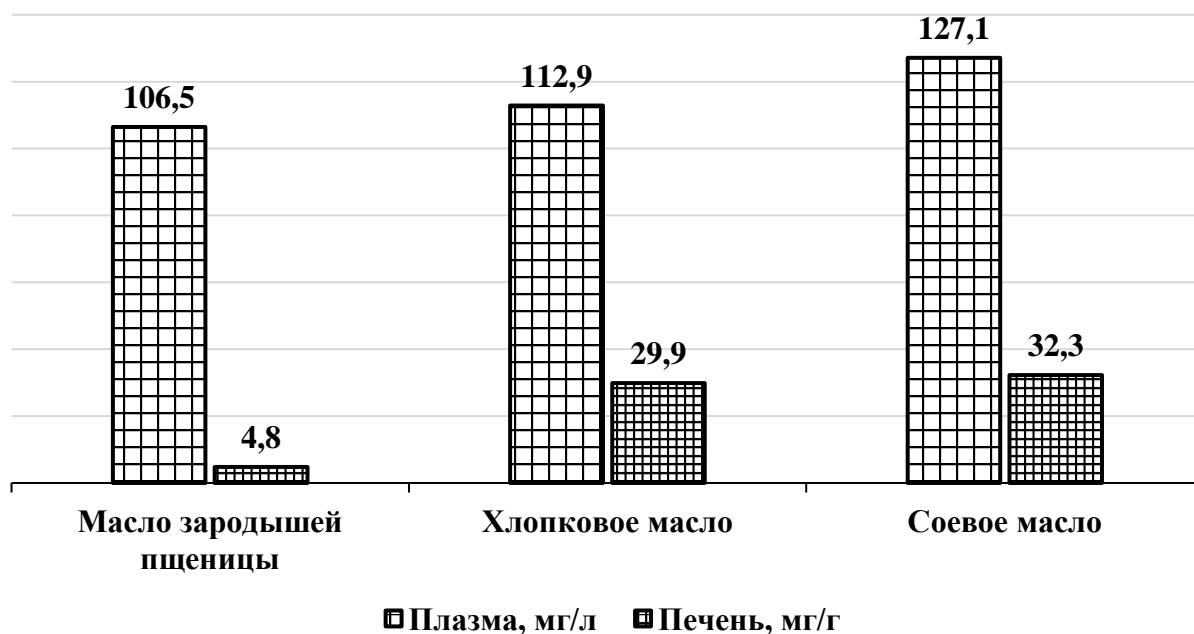
Секвестранты желчных кислот (ионообменные смолы).

К свободным жирным кислотам (СЖК) относятся холестирамин, колестипол, колесевелам. Механизм действия СЖК заключается в связывании желчных кислот в просвете кишечника и выведении их с фекальными массами это снижает всасывание желчных кислот в составе мицеллы. [154;1031-1036С.]. В результате частично снижается энтерогепатическая рециркуляция ХС в составе желчных кислот. Снижение поступления ЖК в печеночную клетку активирует использования холестерина в печени для синтеза ЖК. Увеличение расхода ХС сопровождается увеличением числа ЛНП рецепторов на ее поверхности и снижением уровня ХС ЛПНП в плазме на 5-30%. Из побочных эффектов СЖК можно отметить, что они повышают уровень ТГ. В следствиие компенсаторного повышения синтеза в печени эндогенных ЛПОНП. СЖК противопоказаны больным с выраженной ГТГ (ТГ >4,0 ммоль/л).

Препараты на основе зародышей пшеницы

В последние годы большой интерес у исследователей вызывают зародыши пшеницы и мука зародышей. Предпосылкой к испытанию масла этих продуктов в клинике различных заболеваний сердечно-сосудистой системы послужили зарубежные публикации о влиянии масла зародышей пшеницы (МЗП), и и мука из них на содержание холестерина в крови и печени. Установлено, содержание холестерина в крови и печени крыс при использовании МЗП снижается более значительно (рис.5), чем при использовании хлопкового или соевого масел [49; с. 34,68; с.80,69; с. 34].

Применение диеты с 7% зародышей пшеницы уменьшает содержание холестерина в крови на 5-10% по сравнению с группой, не принимавшей зародыши. Более того, при приеме такой муки не наблюдается побочных эффектов и аллергических реакций.



*Рис. 5. Содержание холестерина в крови и печени крыс, получавших
Различные масла [68; с. 80]*

На кафедре терапии и неврологии Харьковской медицинской академии последипломного образования изучено влияние МЗП на больных с ишемической болезнью сердца (стенокардия напряжения II и III функциональных классов). Анализ изменения биохимического состава крови показал, что использование МЗП у

больных достоверно снижает уровень липидов и β -липопротеидов. Положительные результаты наблюдали и в отношении клинического течения болезни. Так, у больных, дополнительно получавших МЗП, количество приступов стенокардии сократилось в 4 раза (у не получавших - в 2,5 раза), соответственно снизилось и потребление нитроглицерина. Устойчивость к физическим нагрузкам у этих больных была выше. Использование МЗП сопровождается снижением исходно повышенной свертываемости крови, что очень важно и с патогенетической точки зрения [69; с. 34].

Н.С. Радионова и О.А. Соколова, в аналогичном исследовании, у пациентов, также наблюдали положительную динамику в липидном спектре крови: снижение содержания холестерина, холестерина в липопротеидах низкой плотности и, что особенно важно, повышение содержания антиатерогенного холестерина высокой плотности [45; с. 38-47,30; с. 88-89].

В Новосибирской медицинской академии была изучена эффективность применения масла зародышей пшеницы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы [10; с. 63-72,11; с.25,68; с. 80]. Оказалось, что сочетание гиполипидемической диеты с маслом зародышей пшеницы, достоверно улучшает состояние больного, уменьшает выраженность клинических симптомов, и положительно влияет на спектр липидов крови. Причем гиполипидемический эффект был устойчивым: сохранялся даже спустя три месяца после терапии. Следовательно МЗП оказывает выраженное и устойчивое гиполипидемическое действие, что является предпосылкой для дальнейших исследований.

Важной составляющей МЗП является ценный эссенциальный компонент – поликозанол. Это смесь высокомолекулярных алифатических спиртов с длиной цепи 20 - 36 атомов углерода, основную часть которых составляет октакозанол, а также тетракозанол и гексакозанол.

По разным сведениям, МЗП содержится 1,5 - 8,0 мг/100 г поликоназола. Его механизм действия основан на модуляции ГМГ-КоА-редуктазы, поглощении желчных кислот и частичной утилизации молочной кислоты. Активные компоненты поликозанола замедляют выработку холестерина. Важно, что

поликозанол исключительно воздействует на метаболизм холестерина липопротеинов низкой плотности. В частности, он увеличивает рецепторзависимый процессинг ЛПНП: повышает их связывание со своим рецептором, улучшая транспортировку ЛПНП в клетки печени, и, таким образом, значительно усиливает, расщепление холестерина ЛПНП.

Кроме снижения содержания ЛПНП, поликозанол повышает уровень липопротеинов высокой плотности, защищает ЛПНП от разрушительного воздействия свободных радикалов и подавляет чрезмерную агрегацию тромбоцитов. В общем, поликозанол имеет много благоприятных фармакологических свойств для профилактики и лечения атеросклероза или склерозирования артерий. Употребление 10 мг поликозанола в сутки снижает уровень холестерина ЛПНП на 20-25% в течение первых 6 мес. лечения; при дозировке 20 мг- на 25-30%. Содержание холестерина ЛПВП повышается на 15-25% уже после 2 мес. применения. Оба этих воздействия значительно нормализует соотношение ЛПНП и ЛПВП. Это намного лучший результат, чем от статинов. Следовательно, 10 мг поликозанола по эффективности эквивалентны 20 мг ловастатина и 10 мг - симвастатина и правастатина.

Причем, если применение этих лекарственных средств вызывает побочные эффекты, то поликозанол полностью безопасен. Его можно применять для лечения пациентов с диабетом, пожилых пациентов, а также пациентов с нарушением функции или тяжелых поражений печени [15; с. 342-350,75; с. 176-183,90; с. 115-119]. Поликозанол воздействует на агрегацию тромбоцитов, улучшает восприимчивость тканей к инсулину у больных сахарным диабетом. Предотвращает агрегацию тромбоцитов, воздействуя на синтез простагландинов (снижает уровень в сыворотке тромбоксана А2 и повышает - простаглицлина) и снижая риск тромбообразования. При этом показатели коагуляции не изменяются. Поликозанол также усиливает антитромбоцитарное действие аспирина, что подтверждает различием механизмов действия этих веществ. Выявление связи между холестерином сыворотки крови и образованием тромбоксана А2 в тромбоцитах человека, позволило предположить, что образование тромбоксана и гиперактивность

тромбоцитов связана с гиперхолестеринемией, вследствие чего антитромбоцитарные свойства поликозанола приобретают наибольшее значение [70; с. 205-209,75; с. 176-183,76; с. 176-183,77; с. 695-697,78; с. 181-185].

Поликозанол препятствует развитию атеросклеротических нарушений. Для сердечно-сосудистой системы его положительное влияние заключается в способности регулировать жировой обмен, клейкость тромбоцитов в крови и производство холестерина.

Поликозанол активно воздействует на пролиферацию мышечных клеток, стимулирует активное потребление кислорода тканями во время физических нагрузок, улучшает нервно-мышечные функции, сокращает время двигательной реакции, повышает физическую выносливость, увеличивает запасы гликогена в мышцах и снижает симптомы стрессов. [90; с. 115-119,91; с. 791-795].

Следует отметить, что МЗП содержит витамины А, Д, группы В и аномально высокое количество витамина Е из известных растительных масел, причем преобладает (около 70%) наиболее активная форма – α -токоферол (табл. 3) [5; с. 276].

Таблица 3

Содержание холестерина в крови и печени крыс, получавших различные масла

Масло	Плазма, мг/л	Печень, мг/г
Зародышей пшеницы	106,5	4,8
Хлопковое	112,9	29,9
Соевое	127,1	32,3

Содержание каротиноидов в традиционных пищевых маслах составляет 0,0005-0,001 мг/100 г, в рафинированных маслах они полностью отсутствуют. Известно, что каротиноиды повышают биологическую ценность и стабильность масла, в МЗП их содержится до 3 мг/100 г. В организме человека они превращаются

в жирорастворимый витамин А, который участвует в синтезе стероидных гормонов что в значительной степени определяет ранозаживляющее и иммуностимулирующее действие МЗП.

Жмых зародышей пшеницы (ЖЗП), образующийся после извлечения методом холодного прессования из зародышей пшеницы масла, содержит почти весь спектр биологически активных компонентов исходных зародышей пшеницы. [3; с. 37,9; с. 108-113].

Анализ публикаций показал, что любое нарушение одного из этапов липидного обмена нарушает качественный и количественный липидный состав крови, а дислипидемии отводят ведущую роль в патогенезе атеросклероза.

Традиционно для оценки липидного обмена используются такие показатели как содержание общего холестерина, холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) и триглицеридов. Однако в последнее время исследования установили, что эти показатели липидного обмена не в полной мере отражают проатерогенный потенциал крови. Описаны случаи развития атеросклероза у людей с нормальным уровнем холестерина [120; с. 219-222, 144; с. 1003-1008]

Также известно, что применение липид-снижающей терапии у лиц с сердечно-сосудистой патологией в ряде случаев не приводит к положительным результатам. Определение содержания общего холестерина и триглицеридов способствуют выявлению только 50% нарушений липидного обмена. В связи с этим для повышения клинической информативности показателей липидного обмена исследователями было предложено использовать различные расчетные индексы. Большинство из известных индексов отражают соотношение основных классов липидов в плазме крови, другие являются суррогатными маркерами размера частиц липопротеинов.

Современная стратегия лечения атеросклероза предполагает на комплексную терапию, направленную на достижение оптимального уровня холестерина и показателей липидного обмена в кратчайшие сроки.

ГЛАВА II. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА СЫВОРОТКИ КРОВИ

Определение жирных кислот методами газовой хроматографии.

Жирнокислотный состав сыворотки крови определяли в научной лаборатории Республиканского научно-практического центра спортивной медицины при Национальном Олимпийском комитете РУз на тройном квадрупольном хромато-масс-спектрометре с газовым хроматографом (ГХ-МС/МС) TRACE 1310 TSQ 8000 и роботизированным автосамплером CTC TriPlus RSH фирмы Thermo Fisher Scientific(США).

Для этого сыворотку крови разделили от красных кровяных тельцов центрифугированием цельной крови при 2000 об/мин в течение 6 мин. Затем 0,5 мл супернатанта (плазма крови) перенесли в 1,5 мл градуированные эппендорф пробирки и добавили 0,4 мл ацетона для осаждения белковой фракции. Смесь тщательно перемешивали на вортексе в течении 0,5 -1 мин и затем центрифугировали при 15000 об/мин в течение 10 мин. После этого, супернатанты в объеме 0,3-0,4 мл перенесли в новые эппендорф пробирки и добавили 0,25 мл гексана для экстракции жирных кислот. Смесь тщательно перемешивали на вортексе и оставили на несколько минут для полного разделения водного и гексанового слоя. Гексановый слой смеси перенесли в новые эппендорф пробирки, а процесс экстракции повторили еще два раза для полного извлечения химических веществ липидной природы. Полученные гексановые слои упаривали на микроконцентраторе до суха, а затем полученные осадки растворили в 0,5 мл объеме гексана и перенесли в стеклянные виалы для анализа в ГХ-МС.

Условия хроматографии установили следующим образом: капиллярная колонка (0.2 μ m x 0.25 мм x 30 м), импрегнированная 5%-ным бифенил-диметилсилоксаном; газ-носитель гелий с

постоянным потоком 1 мл/мин. Начальная температура термостата колонок 40°C с задержкой в 1 мин. Затем термостат нагревали до 280°C со скоростью 20°C/мин с задержкой в 3 мин при 280°C, с последующим уменьшением температуры до исходного состояния в течении 6 мин со скоростью 40°C. Температура инжектора и масс-спектрометрического детектора установили при 250°C. Экстракт вводили в объеме 1 мкл в режиме с разделением (split) потока. Способ ионизации проводили электронным ударом при 20 eV. Регистрацию хроматографического профиля производили спустя 3 мин после старта для удаления сигнала растворителя. Процесс хроматографии контролировали с помощью программы XCalibur в интервале пределов значений m/z 50-1500. Идентификацию компонентов производили с применением библиотеки эталонных масс-спектров природных соединений “NIST”.

Методы экстракции жирных кислот из биологических образцов.

Чаще всего, содержание эндогенных кислот определяют в плазме крови, реже - в моче [88]. Иногда проводится более избирательный анализ, например, на содержание ЖК в мембранах эритроцитов [103] или в тканях атеросклеротических бляшек [78].

Основным методом экстракции, до и после дериватизации, является жидкость-жидкостная, с использованием, например, н-гексана [104,105], дихлорметана, этилацетата в качестве экстрагентов [106]. Наряду с жидкость-жидкостной применяют твёрдофазную экстракцию (ТФЭ) с использованием патронов C18 [93] и Strata-X (Phenomenex, Macclesfield, UK) [107]. Преимуществом ТФЭ является возможность автоматизации пробоподготовки, что ускоряет процесс и минимизирует ошибки.

Предварительное хранение и транспортировка биологических проб.

При хранении необходимо соблюдать следующие параметры: продолжительность хранения, температура и количество циклов замораживания и размораживания (з/р) [4]. В простейших случаях, до передачи пробы химико-аналитическую лабораторию, он замораживается до $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (реже - до $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$) в течение 24 часов, и т.е. он пройдет один цикл з/р. Количество з/р зависит от объема отобранных проб (требует большей продолжительности хранения), от создания лабораторного “банка” образцов и применения различных методов анализа. Исследование влияния циклов з/р на содержание концентрации эндогенных соединений в пробе, стали особенно актуальными из-за формирования большого числа крупных “банков” биологических образцов [112-114].

Степень влияния условий хранения биообразцов на достоверность результатов метаболического профилирования методами ГХ-МС исследовано во многих работах [115-117]. Установлено, что при строгом соблюдении требований хранения и транспортировки проб, результатов анализа, были значительно ниже, чем индивидуальные вариации метаболических профилей. В других исследованиях отмечено [118] увеличение концентраций СЖК при хранении на 32%, и уменьшение триглицеридов на 19%. Описаны результаты [119] увеличения концентраций ЭЖК и некоторое снижение - СЖК в процессе хранения (1 цикл з/р и хранение при комнатной температуре или при $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 6 мес.).

В некоторых исследованиях [120] отмечены изменения лишь в минорные ЖК, и не затрагивают основных компонентов жирно кислотного состава образцов. Но содержание многих минорных ЖК является важными диагностическим маркером (например, активности стеарил – КоА –, $\Delta 6$ – и $\Delta 5$ – десатураз), кроме того

соотношение ω -6/ ω -3 полиненасыщенных ЖК в крови связывают с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, с инсулинорезистентностью и пр.

Исследовано [121] поведение ЖК в плазме и эритроцитах после длительного хранения и сильной заморозке. Из крови доноров, получали плазму и замораживали при -80 °С. Эритроциты трижды отмывали в буфере HEPES и, после исследования жирнокислотного состава также замораживали при -80 °С. Было установлено изменение состава ЖК в триглицеридах плазмы: снижения содержания C14:1 на 0,11 мольн. % и увеличение - C22:5 ω -3 на 0,04 мольн. %. Изменение состава эритроцитов. Значительное увеличение отмечено у C14:0, C15:0 и C22:5 ω -3 кислот - на 0,07, 0,04 и 0,06 мольн. %, соответственно. В целом исследования показали стабильность ЖК в плазме и эритроцитах при хранении их при -80 °С.

Исследование условий хранения цельной крови выполняли в следующем порядке [122]. В вакуумную пробирку с гепарином отбирали кровь (для предотвращения коагулирования), затем в аликвоту цельной крови (500 мкл) добавляли бутилированный гидрокситолуол (БГТ), образцы хранились при -80 и -20 °С. Исследование показало отсутствие влияние условий хранения на общее содержание ЖК. Однако были выявлены статистически значимые закономерности между содержанием НЖК, ПНЖК и МНЖК в образцах, хранившихся при различных температурах : содержание МНЖК уменьшалось при, хранении - 20 °С Концентрация же ПНЖК, общая концентрация ω -6 и ω -9 ЖК и их индивидуальные значения были значительно выше при -20 °С. В работе установлено [123] также, что добавка БГТ положительно стабилизирует ЖК в плазме при хранении -20 °С, особенно на, суммарную концентрацию эйкозапентаеновой и докозагексаеновой

кислот, являющуюся важным маркером ишемических болезней сердца [124,125].

Анологично исследование состава ЖК икры тунца и кефали [126] проведено после 0, 15, 30, 90 и 180 дней хранения при температуре +4 °С. Установлено что в икре кефали содержание общего количества ЖК (НЖК, МНЖК и ПНЖК) с течением времени постепенно уменьшается, в икре тунца наблюдали резкое снижение ПНЖК, 90 и 180 дней наблюдений. Выявлена достоверная корреляция между изменениями концентраций некоторых классов ЖК (в большей степени - ПНЖК) и биогенными аминами (БА) в течение продолжительного хранения. Амино-липидная корреляция также имеет место как между общим содержанием БА и ЖК, так и конкретными полиаминами (спермидин, спермин и ПНЖК). Таким образом напрашивается вывод о ряде противоречий в результатах оценки влияния условий хранения биологических образцов, что вынуждает провести собственное исследование.

Масс-спектрометрическое детектирование

Режима ионизации осуществляли электронами при 70 эВ. Детектирование осуществляли в режиме мониторинга избранных ионов. Такой режим значительно повышает чувствительность (за счет увеличения специфичности), и селективность (уменьшения фоновых сигналов от матрицы). Целевые компоненты идентифицировали по данным библиотеки NIST. Для подтверждения каждого компонента требуется наличие 2-3-х характерных иона. Для насыщенных ЖК характерной и самой интенсивной была масса 74, для ненасыщенных – 55;79;67. Эти значения были использованы для количественной обработки. В качестве второго характерного иона выбирали молекулярный ион метилового эфира ЖК, если он был обнаружен. У компонентов, у которых не удалось добиться полного хроматографического разделения, (при одинаковых характерных ионах) идентификацию и количественную обработку проводили по молекулярным ионам метиловых эфиров ЖК (табл.4).

Таблица 4 - Условия регистрации избранных ионов

№ п/п	Метилловый эфир, кислоты	Время мин	$m/z1$	$m/z2$	dwell time
1	Гексановой	5,878	74	99	10
2	Гептановой	6,930	74	87	10
3	Октановой	7,863	74	127	10
4	Нонановой	8,820	74	87	10
5	Декановой	9,915	74	143	10
6	Ундекановой	11,207	74	143	10
7	Додекановой	12,724	74	214	10
8	Тридекановой	14,399	74	228	10
9	Миристиновой	16,205	74	242	10
10	Пентадекановой	18,046	74	256	10
11	Пальмитолеиновой	19,565	55	236	10
12	Пальмитиновой	19,927	74	270	10
13	Гептадекановой	21,734	74	284	10
14	Линолевой	22,972	294		10
15	Олеиновой	23,093	296		10
16	Линоленовой	23,105	292		10
17	Элаидиновой	23,196	296		10
18	Цис-6-Октадеценновой	23,196	296		10
19	Стеариновой	23,534	74	298	10
20	Нонадекановой	25,280	74	87	10
21	Арахидиновой	25,815	79	150	10
22	Арахидиновой Кислоты	26,937	74	326	10
23	Генэйкозановой	28,544	74	340	10
24	Эруковой	29,722	320		10
25	Бегеновой	30,110	74	354	10
26	Трикозановой	31,606	74	368	10

27	Нервоновой	32,724	55	348	10
28	Тетракозановой	33,063	74	382	10
29	<i>Цис</i> -5,8,11,14,17-Эйкозапентаеновой	25,940	79	201	10
30	<i>Цис</i> -8,11,14-Эйкозатриеновой	26,125	79	320	10
31	<i>Цис</i> -11,14-Эйкозодиеновой	26,436	67	322	10
32	Гондоиновой (<i>Цис</i> -11-Эйкозеновой)	26,525	79	320	10
33	Миристолеиновой	15,990	55	208	10
34	<i>Цис</i> -10-Пентадекановой	17,831	55	222	10
35	<i>Цис</i> -10-Гептадеканвой	21,372	55	282	10
36	Гамма-Линоленовой	22,696	79	292	10
37	Линолаэдиновой	23,103	294		10
38	<i>Цис</i> -11,14,17-Эйкозатриеновой	26,570	320	79	10
39	<i>Цис</i> -13,16-Докозодиеновой	29,670	67	350	10

При большом количестве перекрывающихся пиков в одной масс-хроматограмме, время сканирования по каждому значению (m/z) было подобрано так, чтобы не утратить чувствительность и точность измерения не было искажения формы пика или недостаточного числа точек сбора данных на хроматографический пик. Для этого время регистрации разделяли на несколько окон (сегментов), в каждом из которых масс-спектрометр регистрировал только определенные значения (m/z) [2]. Если анализируемые вещества элюировались на стыке двух сегментов, то сегмент настраивали таким образом, чтобы компонент можно было зарегистрировать, даже при его сдвиге в другое окно.

Идентификационные и метрологические характеристики методики для метиловых эфиров ЖК приведены в *табл 5*.

Таблица 5

**Масс-спектрометрические характеристики и время
удерживания метиловых эфиров ЖК [3]**

Метиловый эфир жирной кислоты	Время удерживания мин	<i>m/z</i>	Относительная ошибка, %	
			ЭЖК	СЖК
Ундециловой, C11:0	11,17	74, 143	14	17
Лауриновой, C12:0	12,68	74, 214	16	13
Тридекановой, C13:0	14,35	74, 228	15	8
Миристиновой, C14:0	16,14	74, 242	4	3
Миристолеиновой, C14:1	16,96	55, 208	4	7
<i>цис</i> -10-Пентадеценовой, C15:1	17,77	55, 222	16	-
Пентадекановой, C15:0	17,99	74, 256	2	7
Пальмитолеиновой, C16:1n-7	19,47	55, 236	3	11
Пальмитиновой, C16:0	19,88	74, 270	3	11
<i>цис</i> -10-Гептадеценовой, C17:1	21,32	55, 250	12	
Маргариновой, C17:0	21,68	74,284	2	16
γ -Линоленовой, C18:3nб	22,63	79, 292	5	8
Линолевой, C18:2nбс	22,92	294	5	16
Олеиновой, C18:1n9с	23,03	296	6	12
Линоленовой, C18:3n3	23,03	292	10	5
Линоэлаидиновой, C18:2t	23,05	294	-	-
Элаидиновой, C18:1n9t	23,13	296	8	12
Стеариновой, C18:0	23,47	74, 298	3	11
Арахидоновой, C20:4nб	25,75	79, 150	6	11
<i>цис</i> -5,8,11,14,17- Эйкозапентаеновой, C20:5	25,87	79, 201	8	14
<i>цис</i> -8,11,14- Эйкозатриеновой, C20:3n8	26,05	79,320	5	13

<i>цис</i> -11,14-Эйкозодиеновой, C20:2	26,36	322	11	10
<i>цис</i> -11-Эйкозеновой, C20:1	26,46	292	9	8
<i>цис</i> -11,14,17-Эйкозатриеновой, C20:3n11	26,50	320	17*	12
Арахидиновой, C20:0	26,88	74, 326	9	12
Генэйкозаноовой, C21:0	28,49	74, 340	15	4
<i>цис</i> -13,16-Докозеновой, C22:2	29,61	350		
Эруковой, C22:1n9	29,67	320	25*	15
<i>цис</i> -4,7,10,13,16,19-Докозагексаеновой, C22:6n3	29,90	79, 91	13	5
Бегеновой, C22:0	30,06	74, 354	12	12
Трикозаноовой, C23:0	31,55	74, 368	24*	7
Нервоной, C24:1n9	32,66	55, 348	4	
Лигноцериновой, C24:0	33,01	74, 382	18*	6
Внутренний стандарт: пальмитиновой кислота-d31	19,47	301	-	-

Примечание * - высокая погрешность обусловлена низкими концентрациями в исследуемых пробах - на уровне или ниже предела определения.

Определение оптимальных условий хранения и транспортировки биологических образцов

СЖК и ЭЖК определяли по разработанной двухстадийной методике [4]. После подготовки проб их пулировали и аликвотировали (табл.6). Аликвоты объемом 500 мкл хранили в пробирках типа Eppendorf на 2 мл.

Таблица 6 - Различные условия хранения аликвот плазмы крови [4]

Описание условий хранения	
Замораживание пробы до -20 °С, хранение 24 часа и размораживание до +20°С в течение двух часов при комнатной температуре. Затем следующий цикл.	1
	2
	3 цикла
Хранение пробы при +4 °С	1 день
	2 и 3 дня
Замораживание пробы до -20 °С, хранение 14 или 28 дней Размораживание до +20 °С в течение двух часов при комнатной температуре	14 или 28 дней
Замораживание пробы до -70°С, хранение 14 или 28 дней Размораживание до +20 °С в течение четырех часов при комнатной температуре	14 или 28 дней
Добавление в пробу ди-трет-бутилфенола и замораживание пробы до -20°С, хранение 24 часа и размораживание до +20 °С в течение двух часов при комнатной температуре.	1 цикл
	2 цикла
	3 цикл
Разбавление пробы метанолом (1 : 2), охлаждение до -20 °С, хранение 14 или 28 дней и нагрев до +20 °С в течение двух часов при комнатной температуре	14 или
	28 дней

Все образцы должны быть заморожены и разморожены однократно, за исключением исходного.

ГЛАВА III. ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В ДИНАМИКЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ

Изменение содержания холестерина липопротеинов в динамике экспериментальной гиперхолестеринемии

Эксперименты проведены на 60 кроликах-самцах линии Шиншилла массой 2400–3000 г, разделенных (в зависимости от цели исследования и способа лечения) на 5 групп (в каждой по 12 кроликов) (рис. 2.1): 1-я (контроль) – интактные кролики; 2-я – животные, которым моделировали экспериментальную гиперхолестеринемию; 3-я – коррекция экспериментальной гиперхолестеринемии статином; 4-я – коррекция экспериментальной гиперхолестеринемии Биомайсой; 5-я – коррекция экспериментальной гиперхолестеринемии статином и Биомайсой.

Экспериментальную гиперхолестеринемию воспроизводили ежедневным внутрижелудочным введением холестерина по 0,2 г на кг массы тела в течение 2 месяцев [6; с. 184-186]. Затем 3;4и 5-ю группы животных лечили в течение 30 сут. В качестве статина использовали ультрокс (Nobel Farm), который вводили по 0,6 мг/кг и Биомайсу - 142 мг/кг. Биомайса представляет порошок проростков пшеницы и была предоставлена фирмой ООО ORION-SKORPION.

В испытательном Центре Института химии растительных веществ проведен химический анализ биодобавки и установлено, что в её состав входят белки -33 - 44,5%, полисахариды - 19,2 - 27,6%, жирные кислоты - 3,53 – 4,27%, массовая доля клетчатки – 23,2 – 25,2%. Также содержатся жирно и водорастворимые витамины, микро- и макроэлементы. Основную массу аминокислот составляют незаменимые аминокислоты.

Препараты вводили внутрижелудочно при помощи атравматического зонда ежедневно в утренние и вечерние часы в объеме, соответствующем массе кролика. Кровь брали в утренние часы из краевой ушной вены животных. Исследовали сыворотку крови.

В первый месяц эксперимента погиб один контрольный кролик, причина не выявлена. На третий месяц эксперимента погиб второй контрольный кролик. При патогистологическом исследовании установлено, что гибель наступила от обтурации желчевыводящих путей желчным сладжем.

Все исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1986).

Характеристика экспериментального материала



Рис. 6. Этапы проведения эксперимента

Методы исследования

В динамике экспериментальной гиперхолестеринемии и её коррекции (каждые 20 дней) в сыворотке крови показатели липидного обмена (общий холестерин, ХС ЛПОНП, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, триглицериды) определяли, биолатастами фирмы Numen (Германия), Апо В оценивали методом иммунотурбидиметрии на

биохимическом автоматическом анализаторе Architect С8000 (Abbott, США) в научно-практическом Центре кардиологии МЗ РУз (зав. лаб., к.м.н. Зияева А.В.) и рассчитывали коэффициент атерогенности (КА).

Изменение массы животных в динамике развития атеросклероза.

Перед началом исследований мы удостоверились в наличии экспериментальной гиперхолестеринемии у животных. Для этого каждые 20 дней измеряли массу животных (рис.7), которая достоверно снижалась.

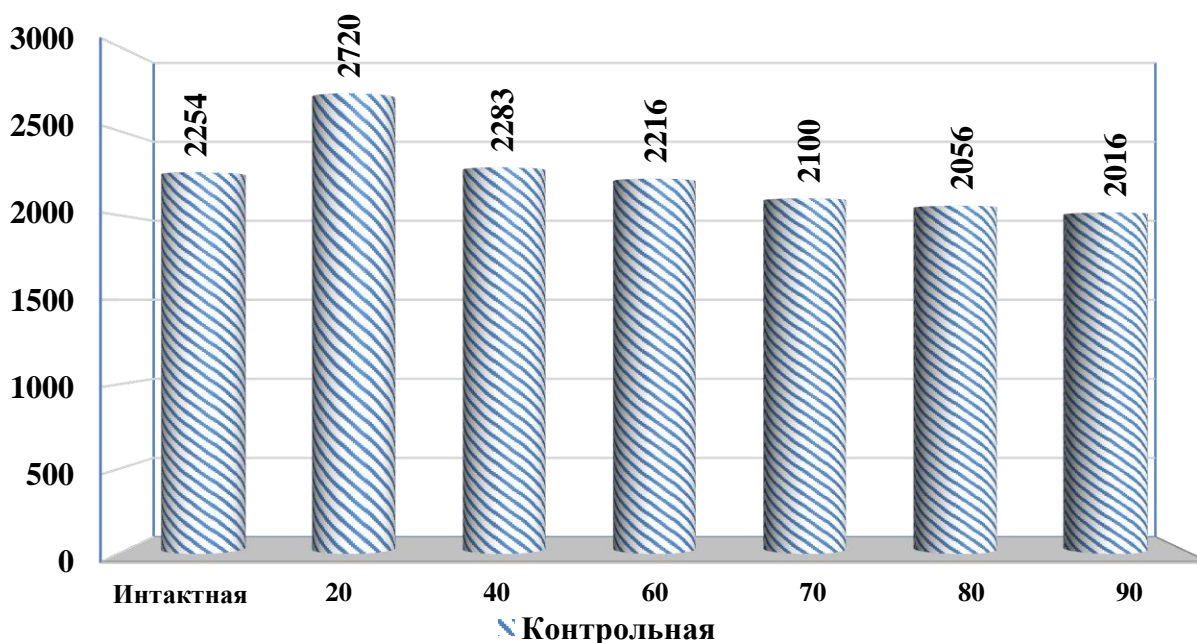


Рис. 7. Динамика снижения массы животных при развитии экспериментальной гиперхолестеринемии

На 40 – и 90 –ый дни снижение составило 10,1 и 22,1 % соответственно по сравнению с массой интактных животных. Как известно, проницаемость клеток зависит от содержания холестерина в биологических мембранах, при развитии гиперхолестеринемии проницаемость ЖК в клетку ухудшается развивается инсулинорезистентность, что вызывает к несбалансированный жировой обмен.

Гиперлипидемия и гиперхолестеринемия развиваются при недостаточной активности липопротеинлипазы сыворотки крови. Результаты исследования содержания холестерина в сыворотке крови и липопротеинах различной фракции (таблице 7.) Показало, что содержание общего холестерина в сыворотке крови интактных животных составило $71,8 \pm 0,8$ мг/дл. На 20 –ый день введения холестерина в организм кроликов установлено увеличение содержания общего холестерина в 2,45 раза по сравнению с интактными животными.

Таблица 7

Изменение транспорта холестерина в динамике экспериментальной гиперхолестеринемии (n=10)

Показатели	Интактная группа	Животные экспериментальной гиперхолестеринемией, дни		
		20	40	60
ОХС мг/дл	$71,8 \pm 0,78$	$176 \pm 2,33^{***}$	$230,8 \pm 1,63^{***}$	$295,2 \pm 1,45^{***}$
ХС ЛПВП мг/дл	$26,7 \pm 0,98$	$21 \pm 0,92^{***}$	$20,72 \pm 1,4^{**}$	$17,8 \pm 0,8^{***}$
ХС ЛПОНП мг/дл	$2,92 \pm 0,07$	$5,46 \pm 0,67^{**}$	$6,8 \pm 0,33^{***}$	$6,98 \pm 0,15^{***}$
ХС ЛПНП мг/дл	$40,8 \pm 0,86$	$149,5 \pm 1,78^{***}$	$203,3 \pm 1,4^{***}$	$270,2 \pm 2,8^{***}$
		70	80	90
ОХС мг/дл	$71,8 \pm 0,78$	$300,1 \pm 1,85^{***}$	$310,1 \pm 1,44^{***}$	$315 \pm 0,48^{***}$
ХС ЛПВП мг/дл	$26,7 \pm 0,98$	$17,2 \pm 0,34^{***}$	$13,1 \pm 0,24^{***}$	$11,7 \pm 0,56^{***}$
ХС ЛПОНП мг/дл	$2,92 \pm 0,07$	$9,22 \pm 0,16^{***}$	$15,3 \pm 0,31^{***}$	$16,1 \pm 0,31^{***}$
ХС ЛПНП мг/дл	$40,8 \pm 0,86$	$273,5 \pm 0,9^{***}$	$281,6 \pm 1,94^{***}$	$287,2 \pm 0,49^{***}$

*Примечание: * - различия относительно данных интактной группы значимы (** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$)*

В последующие сроки эксперимента (40-, 60-, 70-, 80- и 90- ый-дни) содержание общего холестерина достоверно увеличивалось в

3,2; 4,1; 4,2; 4,3 и 4,4 раза, соответственно. Это указывает на стойкое развитие гиперхолестеринемии у экспериментальных животных.

В результате снижения активности липопротеинлипазы в крови увеличивалось содержание ЛПНП и ЛПОНП. Вследствие задержки катаболизма этих атерогенных липопротеидов тормозится образование липопротеидов высокой плотности, которые обычно задерживают проникновение холестерина в клетки сосудистой стенки в составе атерогенных ЛПНП, ЛПОНП за счет конкуренции с их рецепторами. Кроме того, ЛПВП удаляют холестерин с наружной поверхности клетки. Потеря захваченного с поверхности мембраны холестерина сразу же восполняется поступлением его внутрь клетки. Этот процесс идет непрерывно. Захваченный с поверхности мембраны холестерин в составе ЛПВП в плазме крови эстерифицируется под действием лецитинхолестеринацетилтрансферазы (ЛХАТ), и затем, в составе ЛПВП, транспортируется в печень, где частично выделяется с желчью, преобразуется в желчные кислоты.

При атеросклерозе нарушаются процессы эстерификации холестерина в ЛПВП, его транспорт, и соответственно, снижается его уровень в составе ЛПВП. В результате молекула ЛПВП теряет способность выводить холестерин с поверхности эндотелиальных клеток. Дефицит холестерина в молекуле ЛПВП - фактор риска ишемической болезни миокарда, повышение же его уровня холестерина во фракциях ЛПВП - фактор антириска атеросклероза.

Интактная сосудистая стенка практически проницаема для липопротеидов и холестерина. Однако при гиперхолестеринемии, повышенной секреции адреналина, ангиотензина, брадикинина, серотонина, явлениях, при кислородной недостаточности и других экстремальных состояниях увеличивается поступление липопротеидов в сосудистую мембрану. При этом происходит сокращение эндотелиальных клеток и увеличиваются эндотелиальные щели до 200 нм. В щели эндотелиального слоя сосудистой мембраны поступают атерогенные липопротеиды — ЛПОНП и ЛПНП. Этот процесс осуществляется путем

специфического и неспецифического эндоцитоза. В здоровом молодом организме липопротеиды поступают в ткани с помощью специфического эндоцитоза: специфические белковые рецепторы на клеточной мембране связывают липопротеиды низкой плотности и втягивают их внутрь клетки.

Мы исследовали в крови содержание холестерина в различных фракциях липопротеинов в динамике экспериментальной гиперхолестеринемии.

Среднее содержание ХС ЛПВП у интактных животных составило $26,7 \pm 0,98$ мг/дл (табл. 3.1). В динамике развития гиперхолестеринемии содержание ХС ЛПВП, на 20-, 40-, 60-, 70-ый дни снижалось на 21,4, 22,4, 33,4, 39,3% соответственно по сравнению с интактными животными. На 80- и 90-дни эксперимента содержания ХС ЛПВП, ещё более снижалось – в 2 и 2,3 раза. В эти сроки исследования они снижаются 2,0 и 2,3 раза соответственно, по сравнению с интактными животными.

Содержание ХС ЛПОНП повышалось во все сроки исследования по сравнению с интактными животными. На 20-, 40- и 60-ые дни его увеличение было в пределах от 1,9 до 2,4 раз по сравнению с интактными животными. Кормление животных холестерином в течение 80 и 90 дней привело более выраженному увеличению содержания ХС ЛПОНП, оно составило 5,2 и 5,5 раза соответственно по сравнению с интактными животными.

Во все сроки развития экспериментальной гиперхолестеринемии мы установили резкое повышение содержания ХС ЛПНП. На 20-ый день эксперимента оно превышало контроль в 3,6-8,9 раза.

Таким образом, в зависимости от степени гиперхолестеринемии уменьшается связывание холестерина ЛПВП. Наиболее выраженное снижение ХС ЛПВП установлено к концу исследования, а повышение ХС в ЛПОНП и ЛПНП - уже с первых дней введения холестерина в организм кроликов. Полученные показатели соответствовали данным публикаций.

Результаты определения содержания триглицеридов в сыворотке крови кроликов с экспериментальной гиперхолестеринемией показали (рис.8),

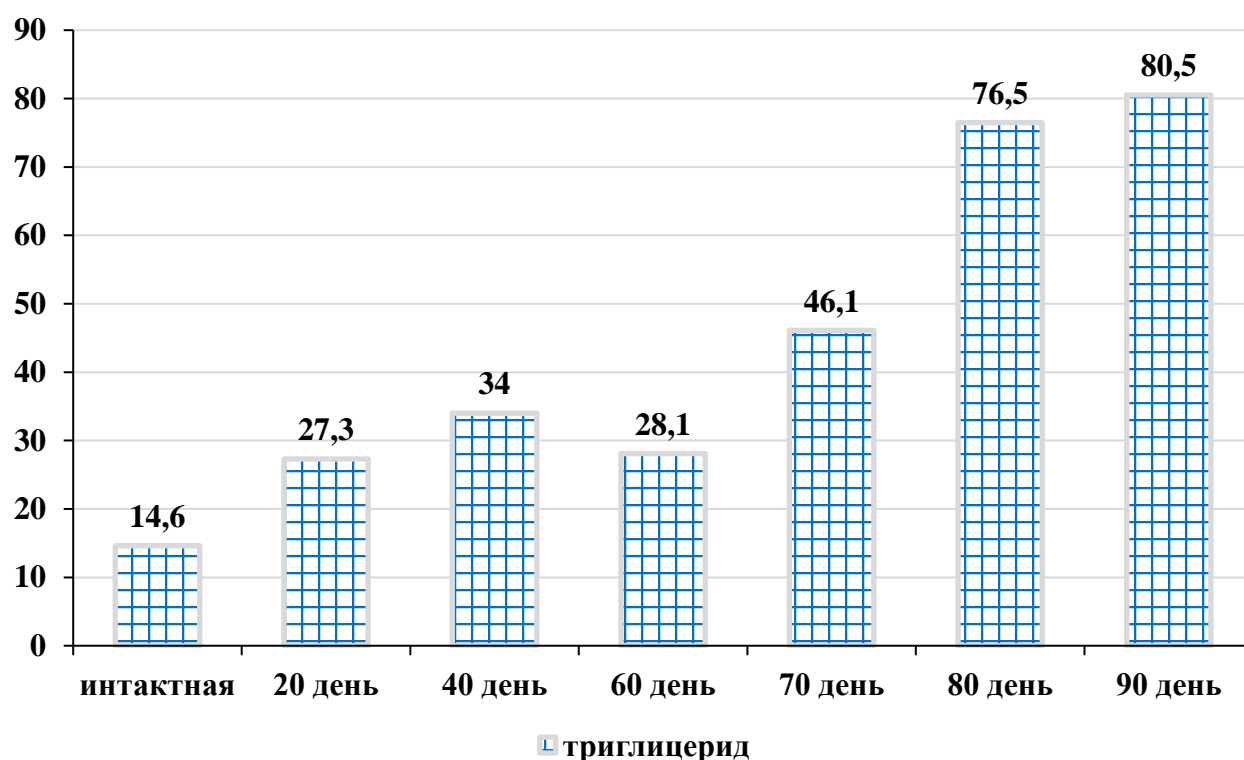


Рис. 8 Изменение содержания триглицеридов крови в динамике развития гиперхолестеринемии

на 20 - и 40 –ой дни развития гиперхолестеринемии оно увеличивалось в 1,8 и 2,3 раза по сравнению с интактными животными. С 70-го дня эксперимента содержание триглицеридов резко повышалось – в 3,2;5,2 и 5,5 раза соответственно 70-, 80-, 90-ми дням эксперимента.

Таким образом, концентрация триглицеридов повышалась в динамике развития экспериментальной холестеринемии.

Как известно, коэффициент атерогенности (КА) показывает, наличие и степень атеросклеротического процесса и возможности его лечения статинами. Мы рассчитали коэффициент атерогенности у экспериментальных животных (рис.9)

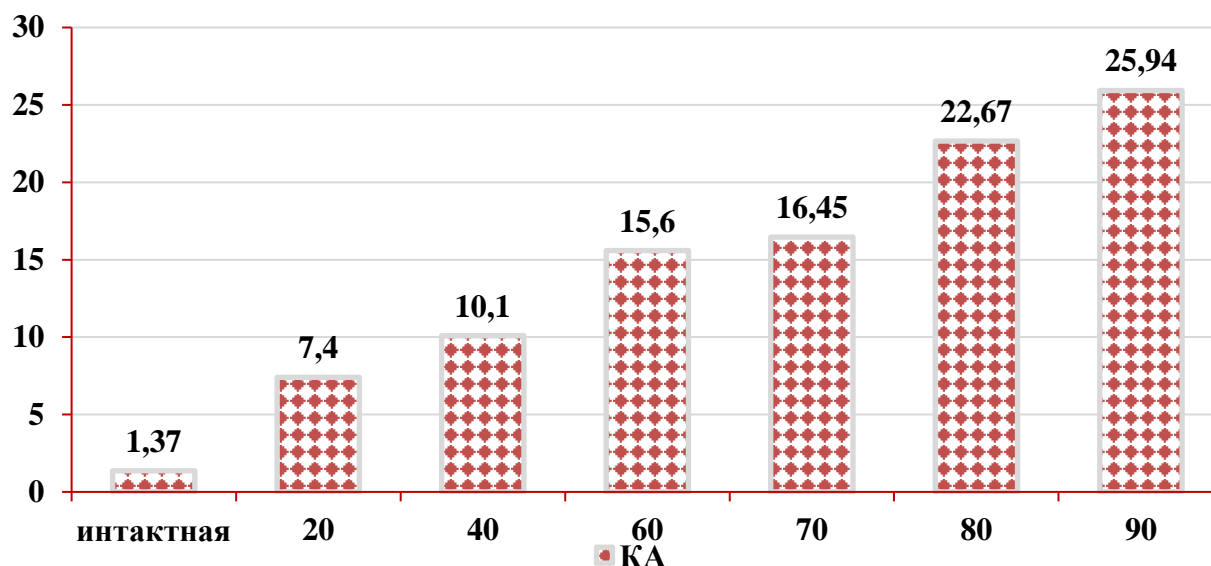


Рис. 9 Изменение коэффициента атерогенности в динамике развития экспериментальной гиперхолестеринемии

Было установлено, что на 20 –ый день развития гиперхолестеринемии коэффициент атерогенности повышал показатели интактной группы в 5,3 раза. ($7,4 \pm 0,13$ при контроле $1,37 \pm 0,02$, $P < 0,05$). В последующем (80- 90 –ый дни) это превышение составило 16,5 и 19 раз по сравнению контрольной группой.

Коэффициент атерогенности обычно рассчитывается на основании двух показателей – общего холестерина и ХС-ЛПВП и отражает соотношение атерогенных и антиатерогенных липопротеинов в плазме крови. Но в последние годы результаты ряда исследований показали, что содержание ХС-ЛПВП не всегда корректно отражает функциональные свойства липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Количество же циркулирующих частиц ЛПВП, является более объективным показателем антиатерогенного действия этой фракции липопротеинов, чем общее содержание в ней холестерина [96; с. 57-64, 110; с. 643-644]. Кроме того, при определенных условиях ЛПВП могут становиться дисфункциональными и проатерогенными [199; с. 1722-1734]. Все это несколько снижает диагностическое и прогностическое значение коэффициента атерогенности.

Существенную роль в инициации и развитии атеросклеротического процесса также играет качественный состав липопротеинов (рис.10).

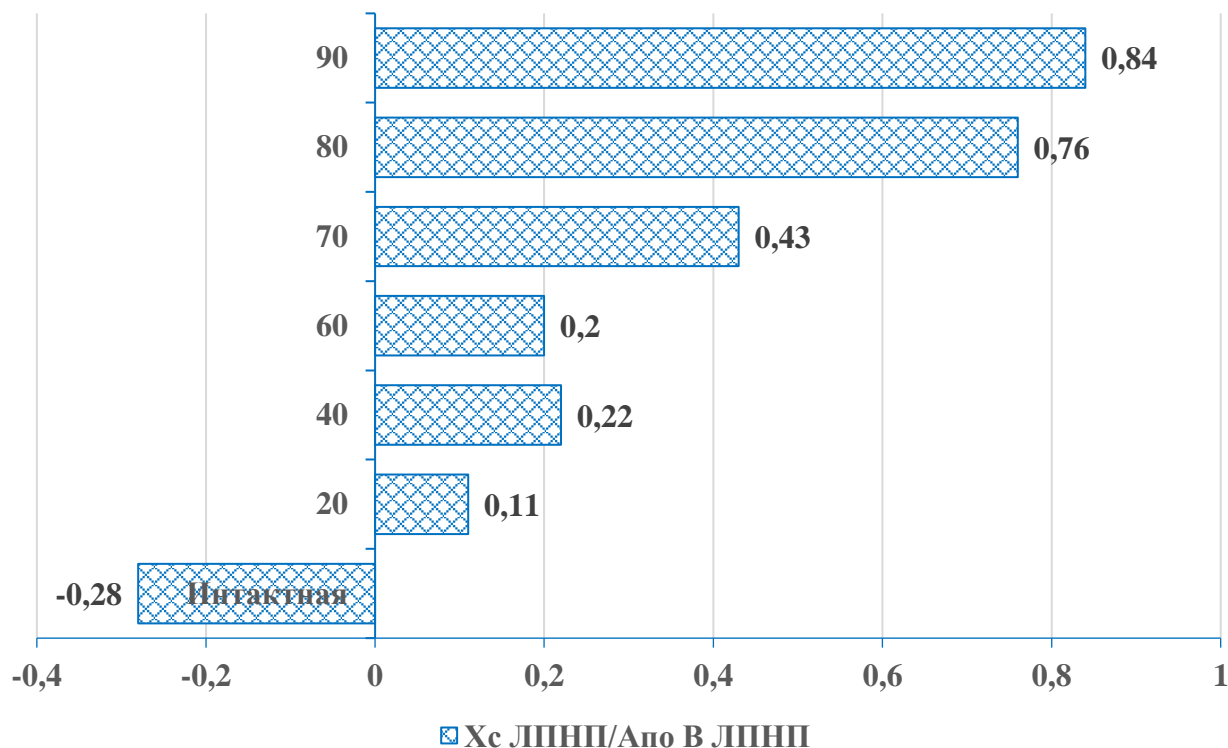


Рис. 10. Изменение атерогенного индекса плазмы в динамике, при развитии экспериментальной гиперхолестеринемии

Каждый класс липопротеинов является гетерогенным и содержит частицы, различающиеся по физико-химическим характеристикам и функциональным свойствам [23; с. 512]. Например, во фракции липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) наиболее высоким атерогенным потенциалом обладают так называемые маленькие, плотные частицы этих липопротеинов [83; с. 1363-1379, 150; с. 1066-1069, 166; с. 3608-3610]. Между тем, оценка содержания (ХС-ЛПНП) не учитывает эти частицы [177; с. 159-164, 177; с. 159-164, 176; с. 261-265]. Поэтому мы определяли атерогенный индекс плазмы (API), соотношение которого указывает на уровень плотных частиц ЛПНП.

При экспериментальной гиперхолестеринемии атерогенный индекс плазмы уже к 20-му дню эксперимента повысился в 1,5 раза,

а к 90-му - в 3,5 раза по сравнению с интактными кроликами. Таким образом, неоднородность липопротеинов обуславливает необходимость оценивать липидный профиль крови не только количественно, но и качественно.

Принято считать, что атерогенный индекс плазмы (AIP) теоретически отражает скорость этерификации холестерина в ЛПВП и размер ЛПНП. Высокие значения атерогенного индекса плазмы указывают на увеличение количества маленьких ЛПВП и маленьких, плотных частиц ЛПНП [101; с. 583-588, 200; с. 60-67].

Таким образом, экспериментальная гиперхолестеринемия сопровождается нарушением транспорта холестерина, гиперлипидемией, бесконтрольным поступлением липопротеидов в стенку сосудов, освобождением холестерина из молекулы ЛПНП и нарушением выведения его из клетки сосудистой мембраны, что приводит к развитию атеросклероза.

Изменение содержания апопротеина В в динамике экспериментальной гиперхолестеринемии.

АпоВ - основной аполипопротеин из группы атерогенных, включающей ЛПОНП, ЛППП и ЛПНП. Его концентрация в значительной степени отражает количество этих частиц в плазме. Это особенно важно в случае высокой концентрации в крови мелких плотных частиц ЛПНП. В проспективных исследованиях было показано, что уровень АпоВ является прогностическим показателем риска, эквивалентным уровню ХС-ЛПНП. АпоВ, такой же достоверный фактор риска, как и уровень ХС-ЛПНП, но более точно указывает на адекватность проводимой терапии [95; с. 473–480]. Кроме того, при определении уровня АпоВ выявляется меньше лабораторных ошибок, чем при анализе ХС-ЛПНП, особенно у пациентов с гипертриглицеридемией.

В крови в динамике экспериментальной гиперхолестеринемии. Мы установили (*рис.11*), что содержание АпоВ изменяется разнонаправленно.

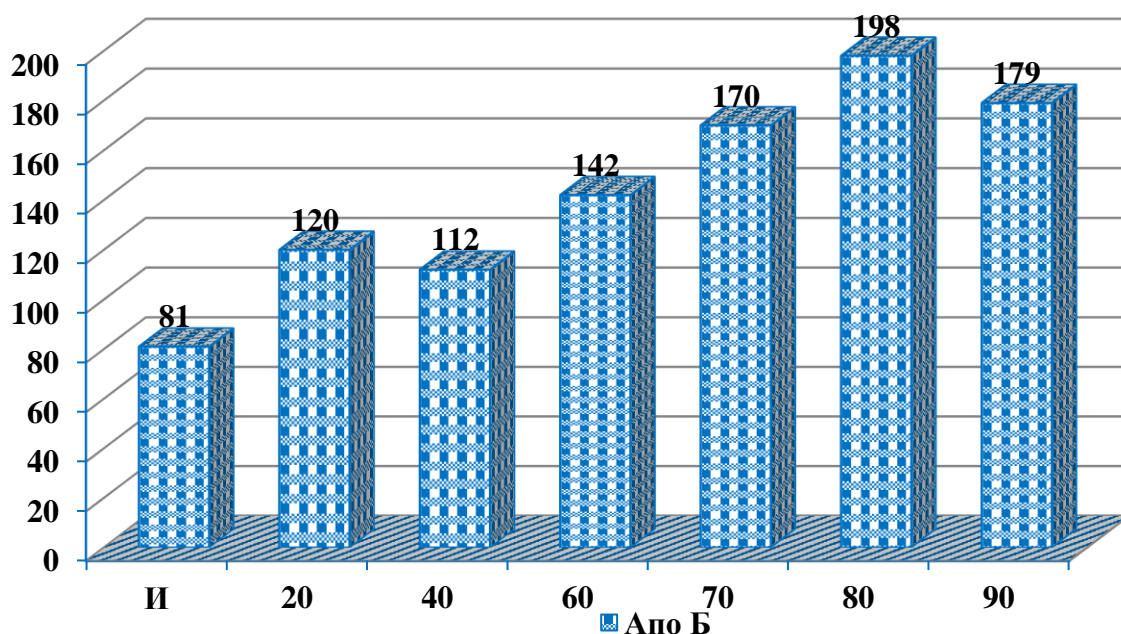


Рис. 11. Динамика изменения содержания Апо В при экспериментальной гиперхолестеринемии

На 20-ый день исследования его содержание увеличивалось 1,5 раза по сравнению с интактными животными. На 40-ый день его концентрация достоверно снижалась на 6,8% содержания Апо В по сравнению с 20-ым днем эксперимента. С 40-го по 80-ый дни эксперимента содержание Апо В вновь возрастало в 1,76; 2,1 и 2,4 раза. На 90-ый день развития экспериментальной гиперхолестеринемии установлено снижение его содержание Апо В несколько снижалось от показателя 80-го дня эксперимента ($179 \pm 1,1$ и $198 \pm 0,9$ мг/дл, $P < 0,05$).

Таким образом, при экспериментальной гиперхолестеринемии динамично увеличивается содержание Апо В во все сроки исследования за исключением 40- и 90-го дней. Увеличение фракции Апо В указывает на нарушение Апо В - 100-рецепторного эндоцитоза и поглощения его клетками ЛПНП [199; с. 1722-1734], которых не поглотили клетки печени, что формирует гиперхолестеринемию.

Показатель ХС-ЛПНП/АпоВ может служить маркером размера частиц ЛПНП и основой для разработки принципов и критериев

клинической оценки и прогнозирования рисков повышения атерогенности липидного профиля крови (рис. 12).

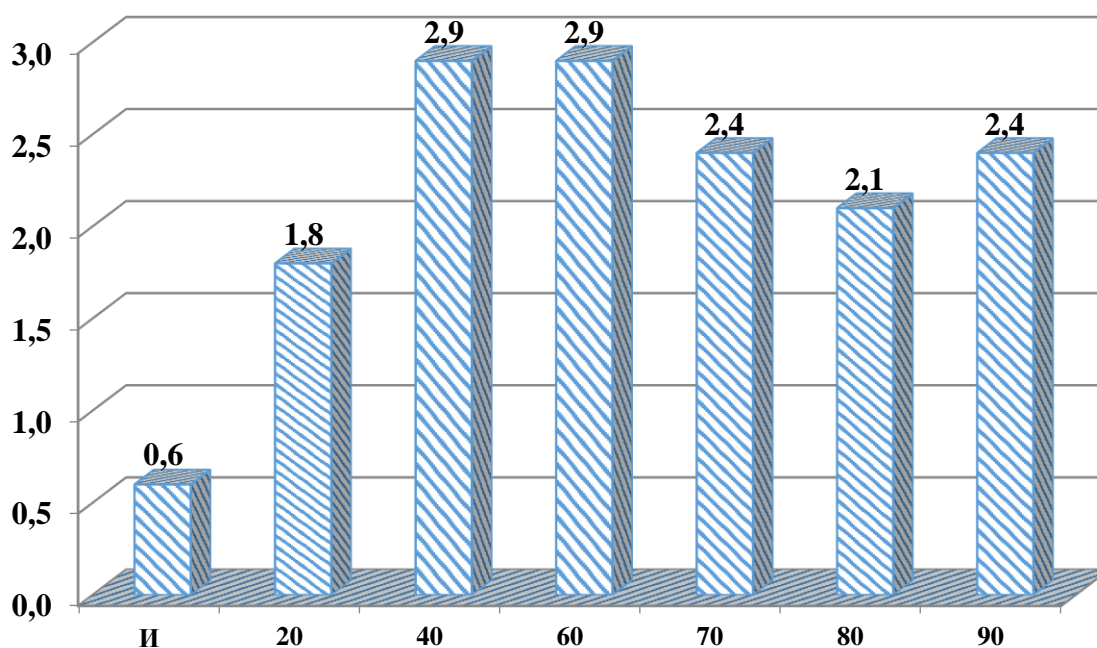


Рис. 12. Изменение соотношения ХС-ЛПНП к apoB ЛПНП динамике развития экспериментальной гиперхолестеринемии

Расчет соотношения ХСЛПНП/apoB ЛПНП является самым быстрым и простым способом оценки размера частиц ЛПНП [118; с. 289-299, 182; с. 24-30, 192; с. 215-220, 197; с. 215-219].

Средние показатели соотношения ХС-ЛПНП/Апо В ЛПНП составили у интактных кроликов 0,6, последующие сроки эксперимента с 20 –го по 90-ый день эксперимента у контрольных кроликов оно увеличилось 3;4,9;4,9;4;3,3;4 раза соответственно по сравнению с интактными кроликами.

Учитывая, что липопротеиновая частица содержит только одну молекулу аполипротеина В, мы рассчитали соотношение ТГ к Апо В как показатель степени обогащения липопротеиновых частиц триглицеридами (рис. 13).

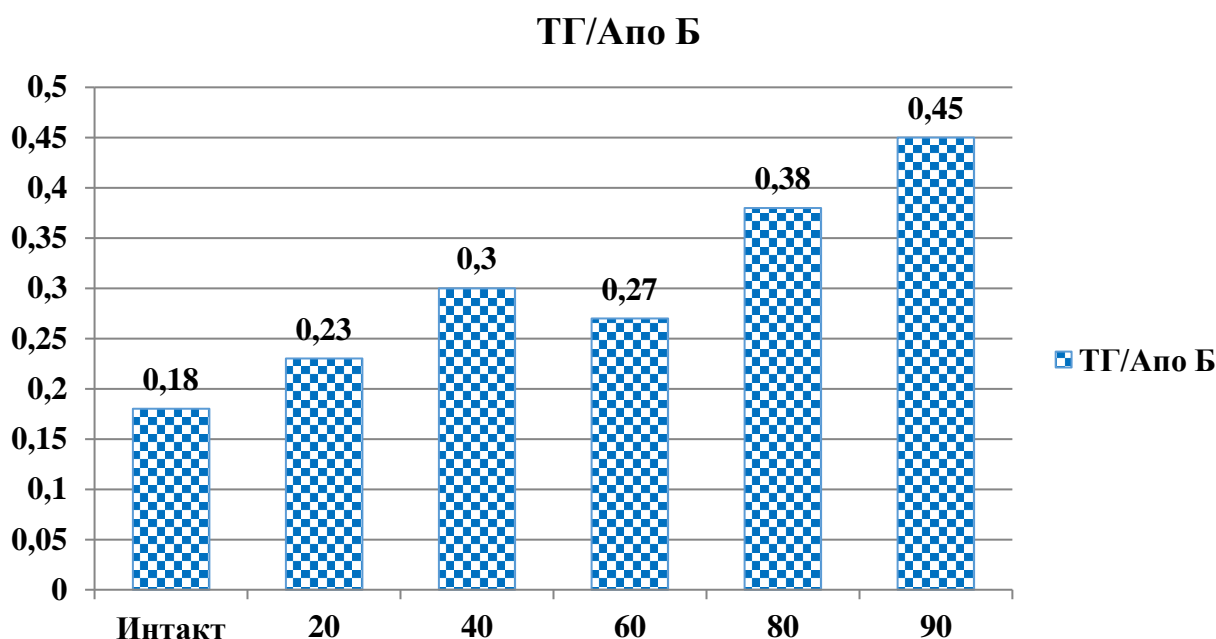


Рис. 13. Соотношение ТГ/Апо В у кроликов в динамике экспериментальной гиперхолестеринемии

У интактных животных соотношение ТГ/Апо В составило 0,18. Уже в первые сроки введения холестерина в организм животных это отношение достоверно повышалось: на 20-, 40- и 60-ый дни исследования повышение составило 27,7, 66,6 и 50% по сравнению с интактными животными. К концу эксперимента (80 - и 90 – ый дни) оно превышало контроль в 2,1 и 2,5 раза соответственно.

Таким образом, насыщенность липопротеинов триглицеридами зависит от длительности эксперимента, на 80 и 90 день развития экспериментальной гиперхолестеринемии установлена наиболее выраженная насыщенность липопротеинов триглицеридами.

Изменение жирнокислотного состава крови при экспериментальной гиперхолестеринемии

Хроматограмма свободных жирных кислот в сыворотке у интактных кроликов (в % на 1 мг). Больше всего в сыворотке у кроликов олеиновых и линолевые жирных кислот (*рис.14 и табл.17*).

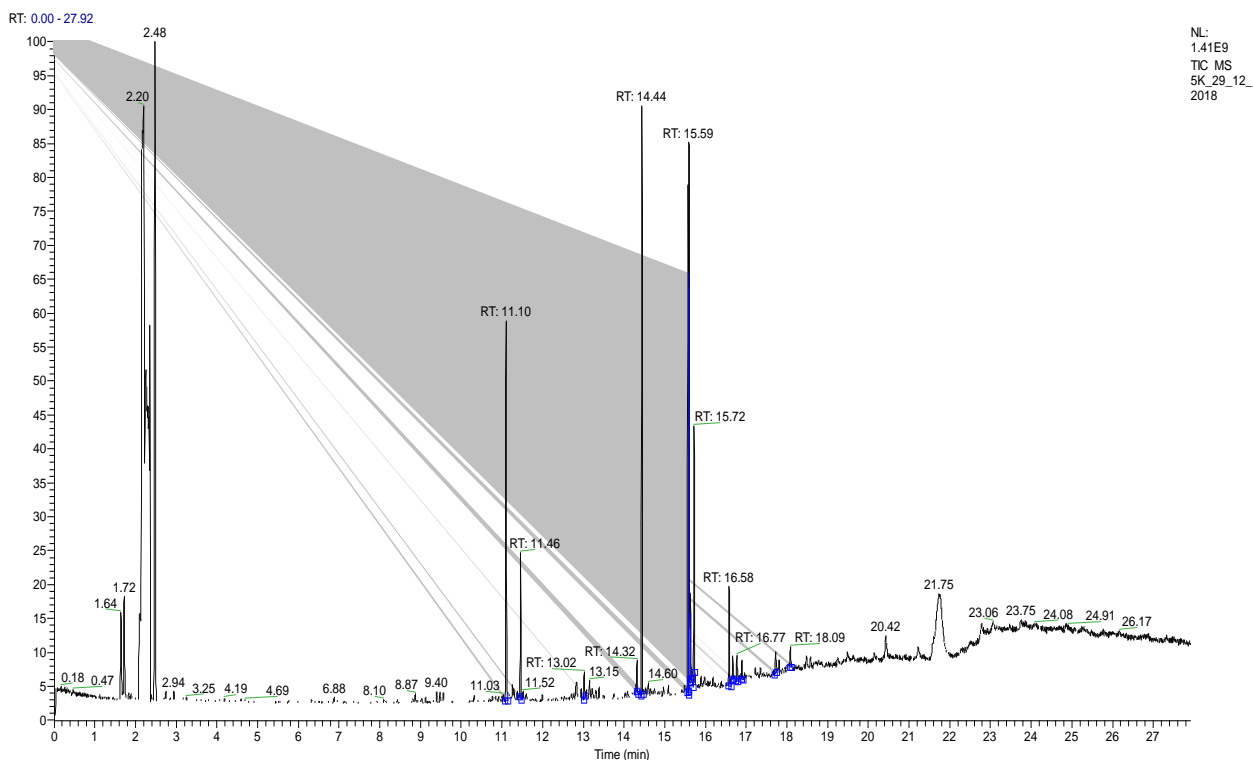


Рис. 14. Хроматограмма жирнокислотного спектра крови интактных животных

Таблица 7

Жирнокислотный состав крови интактных животных (n=8)

Жирные кислоты	Шифр	На 1 мг в %
Миристиновая	C 14:0	0,12±0,01
Пальмитиновая	C 16:0	5,32±0,02
Пальмитоолеиновая	C 16:1	0,6±0,02
Стеариновая	C 18:0	2,95±0,05
Олеиновая	C 18:1	13,58±0,03
Линолевая	C 18:2	6,13±0,03
Линоленовая	C 18:3	1,05±0,01
Арахидоновая	C 20:4	0,12±0,03

Исследование жирнокислотного состава крови животных с гиперхолестеринемией показало, заметные сдвиги в их составе (рис 15 и табл.8).

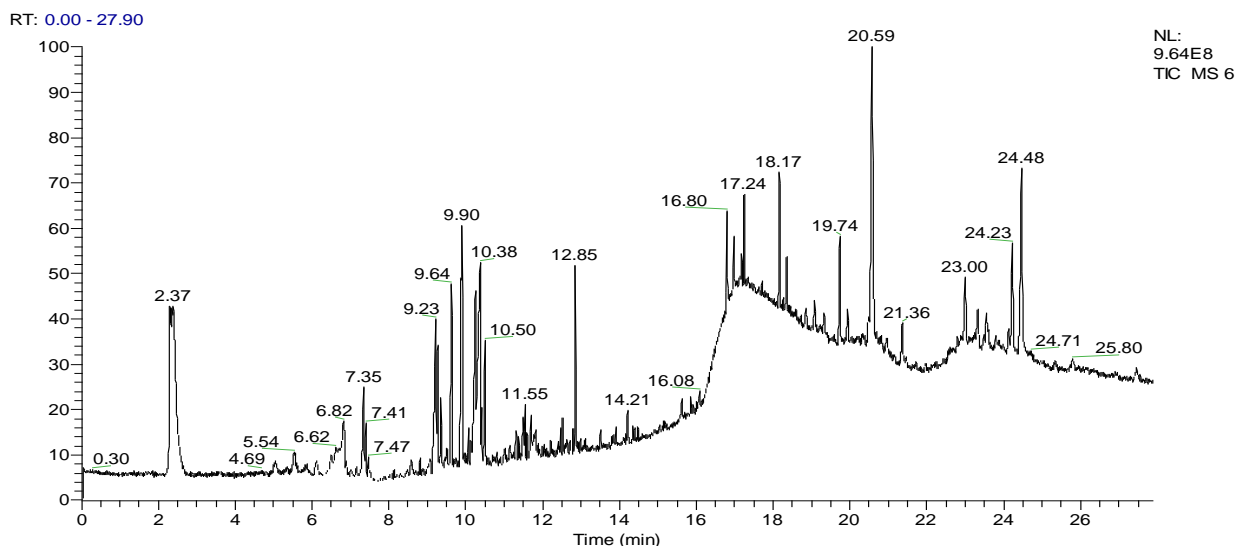


Рис. 15. Хроматограмма жирнокислотного спектра крови экспериментальных животных с гиперхолестеринемией

Количественный анализ отдельных жирных кислот у животных с гиперхолестеринемией показал, что содержание насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот (пальмитиновая, пальмитоолеиновая, стеариновая и олеиновая) повышаются по сравнению с интактной группой животных на 56,3; 91,6; 44,7 и на 50,6% соответственно. В то же время содержание полиненасыщенных жирных кислот (линоленовая) наоборот, снижается на 20% соответственно.

Изменение содержания фактора Виллебранда при экспериментальной гиперхолестеринемии

В физиологических условиях эндотелий сосудов продуцирует большое количество биологически активных факторов, которые непрерывно связаны с гомеостазом, фибринолизом, нарушением сосудистого тонуса и проницаемостью сосудов, синтезом факторов роста и т. п. Одним из таких веществ, которое синтезируется и накапливается в клетках эндотелия, является фактор Виллебранда (ФВ). В случае повреждения клетки эндотелия освобождение ФВ увеличивается, что дает основание некоторым исследователям предложить использовать его в качестве индикатора нарушения эндотелиальной и эндокардиальной функции [87; с. 1469-1471, 88; с.

1430-1436]. Нарушения функции эндотелия преходящи. Они являются результатом нарушения в клетках процессов коагуляции и фибринолиза, что, предполагает связь этих нарушений с тромбообразованием и развитием атеросклероза [119; с. 1-38].

В динамике развития экспериментальной гиперхолестеринемии мы исследовали содержание ФВ в сыворотке крови экспериментальных животных (*рис.16*).

В динамике экспериментальной гиперхолестеринемии мы установили повышение содержания ФВ на 20-ый день введения холестерина – на 77%. И по сравнению с интактными животными. В последующие сроки эксперимента происходит динамичное увеличение содержания ФВ. На 90 день эксперимента его увеличение составило 2,97 раза по сравнению с интактными животными.

Таким образом, при экспериментальной гиперхолестеринемии динамично увеличивается содержание ФВ, что указывает на нарушение функции эндотелия.

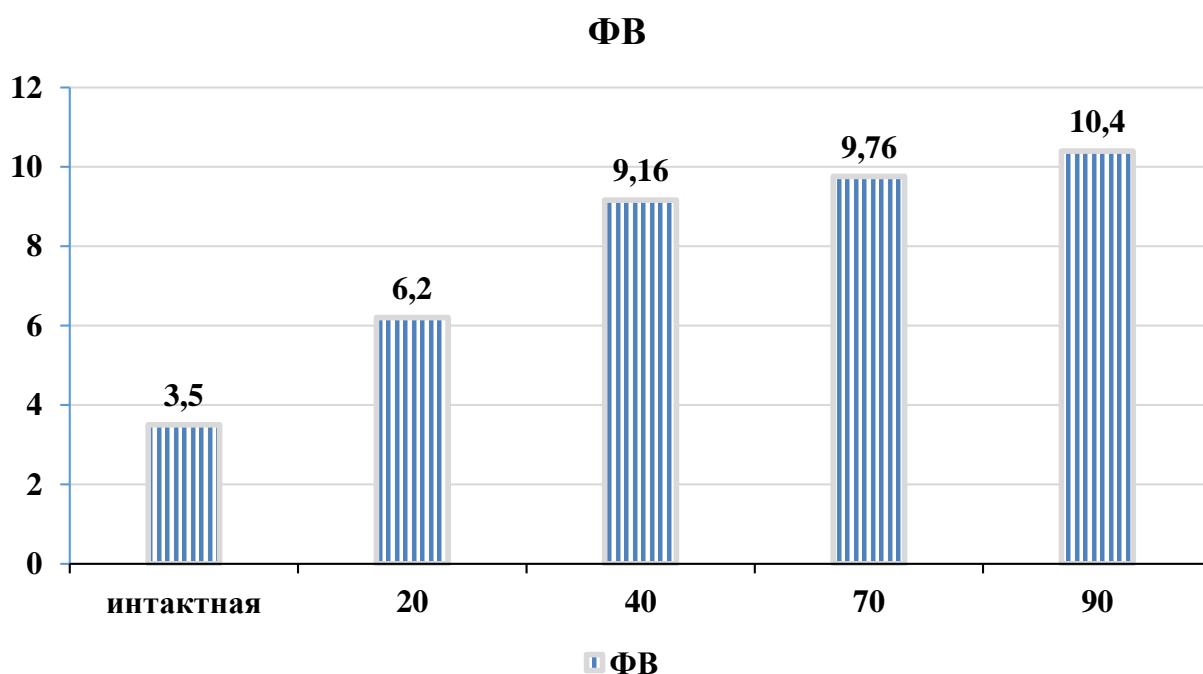


Рис. 16. Динамика изменения содержания фактора Виллебранда при развитии экспериментальной гиперхолестеринемии

Морфологические изменения печени при экспериментальной гиперхолестеринемии

Анализ результатов исследования интактных животных показал типичную морфологическую структуру печени. Орган представлен дольками, не имеющими четких границ и разделенными тонкой прослойкой соединительной ткани. Это ткань развита слабо, об очертаниях долек можно судить по расположению центральной вены и портальных трактов. Паренхима долек образована радиально расположенными вокруг центральной вены печеночными балками (рис. 3.11). Гепатоциты имеют полигональную форму, цитоплазма выглядит гранулярной с одним, реже двумя ядрами правильной округлой или вытянутой формы. Ядро располагается в центре клетки, содержит одно или несколько ядрышек. Портальные тракты представлены триадами: артериола, венула и желчные протоки. Артериолы имеют хорошо выраженную интиму, внутреннюю эластическую мембрану и несколько слоев гладкомышечных клеток в среднем слое стенки.

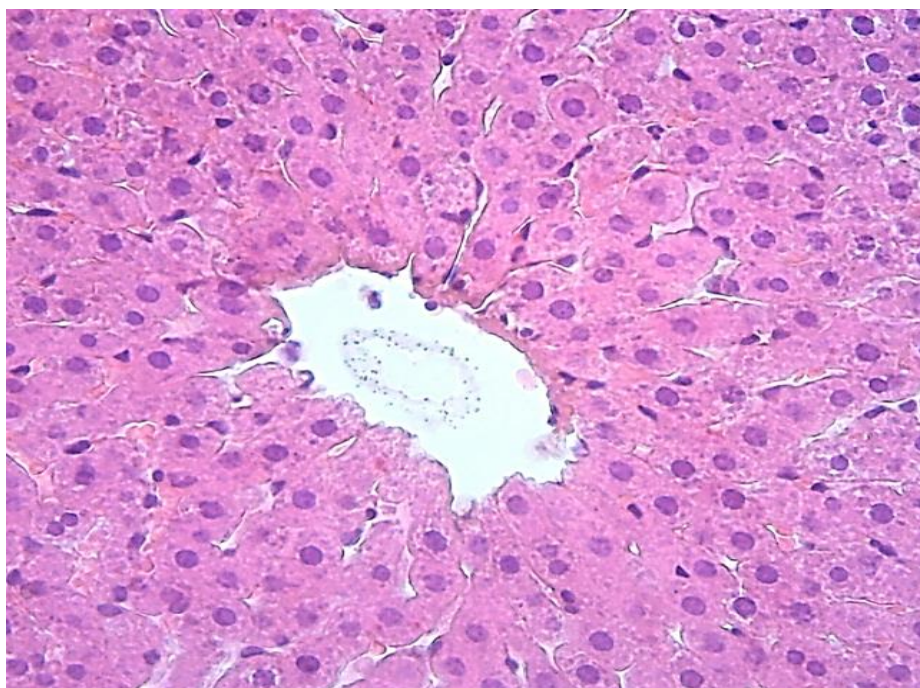
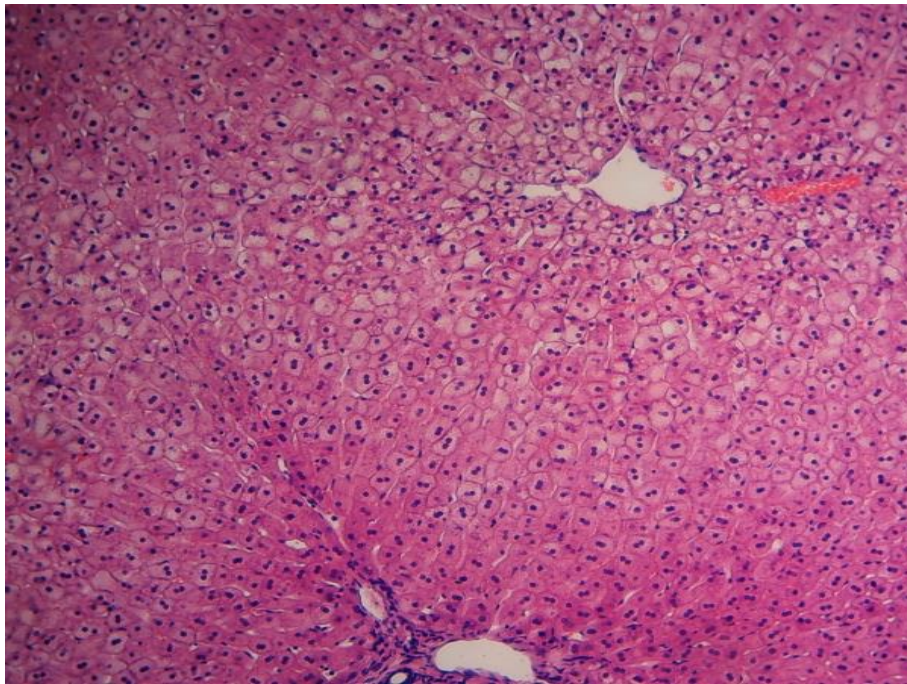


Рис. 17. Паренхима долек печени образована радиально расположенными вокруг центральной вены и триад печеночными балками.

Ок: Г-Э. Ув: ок.10, объект.20.

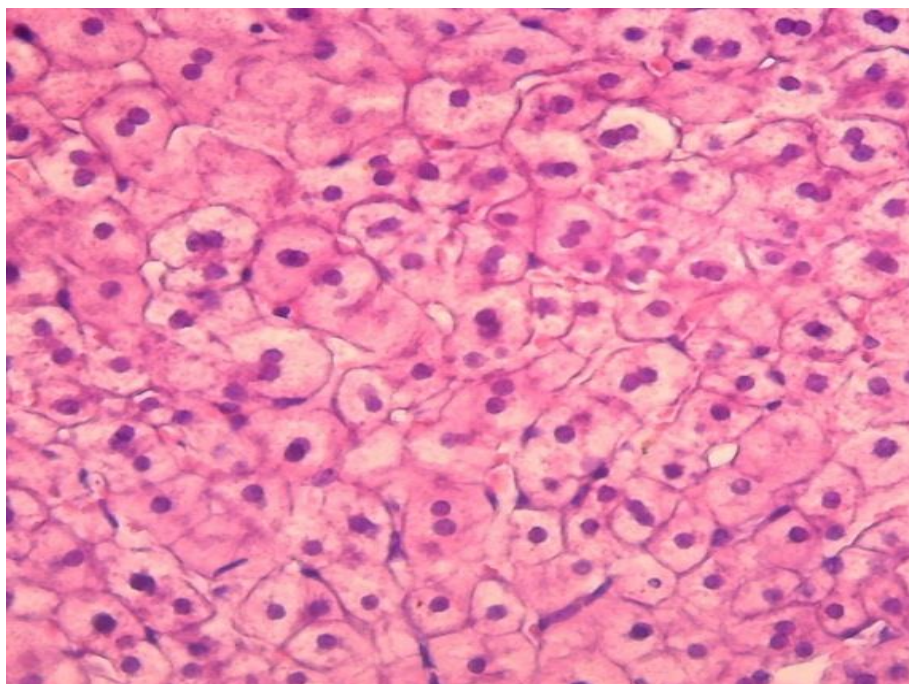
Просвет вен широкий, ограничен одним слоем эндотелия, стенка их лишена гладкомышечных клеток. Междольковые желчные протоки располагаются в центре порталных трактов, стенка выстлана кубовидными эпителиальными клетками. Ядра этих клеток мелкие, округлые, цитоплазма развита слабо. Строма порталных трактов содержит единичные макрофаги, гистиоциты, лимфоциты и полиморфно-ядерные лейкоциты. Синусоидальные капилляры внутри долек представляют собой очень мелкие сосуды, стенки их выстланы эндотелием. Лейкоцитарные инфильтраты и соединительно-тканые волокна в паренхиме не выявляются.

У животных с экспериментальной гиперхолестеринемией к 90-му дню в печени обнаружены выраженные дистрофические процессы. Во всех препаратах выявлялась картина паренхиматозной жировой дистрофии (*рис. 19*): гепатоциты – увеличение, набухшие с множеством мелких бесцветных вакуолей в цитоплазме, придающих ей характерный для данного типа дистрофии вакуолярный вид. Некоторые ядра имели плохо различаемую хроматиновую структуру, в других определялись лишь тени ядер, окрашенные в голубоватый цвет. Границы между клетками определялись неотчетливо. Помимо жировой, выявлялась гидропическая (баллонная) дистрофия: резко набухшие гепатоциты с оптически пустой и разряженной цитоплазмой. Контуры клеток хорошо очерчены, ядра расположены преимущественно центрально с явлениями кариопикноза и кариолизиса. Остатки слабо эозинофильной зернистой цитоплазмы располагались вокруг ядер или вдоль клеточных мембран.



***Рис. 18. Паренхиматозная жировая дистрофия гепатоцитов.
Окраска: Г-Э. Ув: ок. 10, объект. 10***

Гидропическая дистрофия встречалась преимущественно в периферических отделах долики. К 90-му дню эксперимента гепатоциты всех кроликов содержали липидные капли различного диаметра, преимущественно мелкие (рис. 20). Хорошо определялись мелкие включения нейтрального жира, расположенные преимущественно перинуклеарно, цитоплазма клеток представлялась равномерно «запыленной» мелкими зернами, дающими реакцию на жир. При этом ядро оставалось в центре гепатоцита. Такой тип жирового перерождения принято называть мелкозернистым или пылевым.



***Рис. 19. Мелко и крупнокапельная паренхиматозная жировая дистрофия, появление двуядерных клеток.
Окраска: Г-Э. Ув: ок. 10, объект. 40***

В большинстве образцов ткани печени присутствовали и другие признаки дистрофических изменений – слабое окрашивание ядер, распад части клеток. У всех животных жировая дистрофия, имея диффузный характер, была несколько более выражена в перипортальной зоне. Жировые вакуоли выявлялись в 1/3 гепатоцитов, что соответствует первой степени стеатоза. По мнению А.И. Абрикосова и соавт. [1; с. 551] мелкозернистое ожирение следует интерпретировать как дегенеративное, так как в основе процесса в данном случае лежит повреждение печеночных клеток (рис. 21).

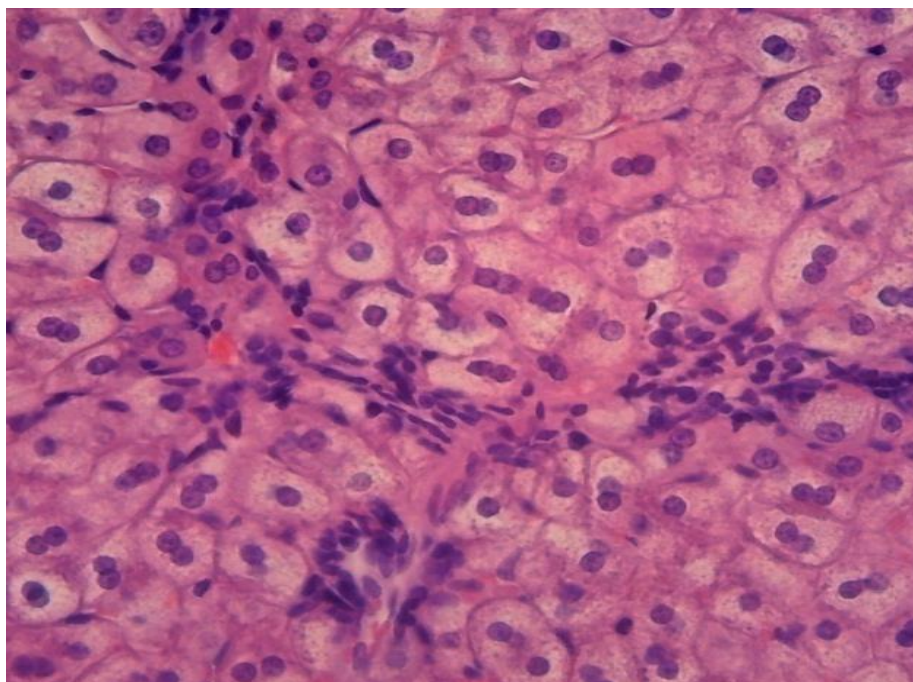


Рис. 20. Воспалительная лимфоидная инфильтрация перипортальной зоны. Окраска: Г-Э. Ув: ок.10, объект. 40.

К 90 – му дню эксперимента в ткани печени кроликов появлялись фокусы воспалительной инфильтрации, (чаще в перипортальной зоне), представленные скоплением лимфоцитов и плазматических клеток. Такая гистологическая картина характерна для хронического гепатита с минимальной активностью.

Признаков фибротизации печени на данных сроках не выявлено. Гистоархитектоника органа сохраняла нормальное строение. Обращало на себя внимание расширение синусоидов, что можно рассматривать как признак серозного отека. Эритроциты нередко образовывали столбики, типичные для явлений стаза.

Таким образом, к 90 - му дню после моделирования экспериментальной гиперхолестеринемии в печени кроликов четко прослеживались грубые дистрофические изменения – белково-жировая дистрофия с признаками хронического гепатита с минимальной активностью на фоне серозного отека, нарушения внутриклеточного дыхания и фосфорилирования. На 90 –ый день эксперимента патологический процесс в печени претерпевал ряд изменений в связи с прогрессированием дистрофических процессов.

Признаки жировой дистрофии, сохраняясь, имели большую степень выраженности. Цитоплазма гепатоцитов была резко разрежена, грубо зерниста, определялась гипохромия ядер. В большинстве образцов печени выявлялась гидропическая дистрофия. Цитоплазма клеток прозрачная, характерен подчеркнутый контур гепатоцитов за счет хорошо различимых мембран. На фоне сохраняющейся пылевидной дистрофии гепатоцитов выявлялись клетки, цитоплазма которых была заполнена нейтральным жиром. В большинстве препаратов отмечалась картина хронического гепатита минимальной степени активности, более выраженная была больше. Поиск признаков фиброза в ткани печени кроликов показал в препаратах, окрашенных по Ван-Гизону, разрастание соединительной ткани, расширение крупных портальных трактов за счет утолщения стромы, формирование соединительно-тканых тяжей из триад к центральной вене.

По результатам можно сделать некоторые выводы.

1. При экспериментальной гиперхолестеринемии у животных развивается морфологическая картина жировой болезни печени.

2. Морфологические изменения в печени экспериментальных животных к 90-му дню после развития гиперхолестеринемии характеризуются жировой и белковой дистрофией гепатоцитов с явлениями колликвационного некроза, гепатитом минимальной активности и начальными проявлениями фибротизации печени.

3. Результаты эксперимента позволяют прояснить некоторые морфогенетические и патогенетические аспекты формирования жировой болезни печени при гиперлипидемии, что поможет оптимизировать диагностические и лечебные подходы ведения таких больных.

Экспериментальная гиперхолестеринемия характеризовалась динамичным увеличением содержания Апо В во все сроки исследования за исключением 40- и 90-го дней. На 80- и 90-ый дни эксперимент установлена наиболее выраженная насыщенность липопротеинов триглицеридами.

Анализ жирнокислотного состава крови у животных с гиперхолестеринемией показал, что содержание насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот (пальмитиновая, пальмитоолеиновая, стеариновая и олеиновая) повышается по сравнению с интактной группой. В то же время содержание полиненасыщенных жирных кислот (линоленовая) наоборот, снижается на 20%.

При развитии экспериментальной гиперхолестеринемии происходило динамичное увеличение содержания ФВ, что указывает на нарушение функции эндотелия.

Морфологические изменения в печени экспериментальных животных к 90–му дню после гиперхолестеринемии характеризовались наличием жировой и белковой дистрофии гепатоцитов с явлениями колликвационного некроза, гепатита минимальной активности и начальными проявлениями фибротизации печени.

ГЛАВА IV. ВЛИЯНИЕ БИОМАЙСА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНУЮ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЮ

Влияние Биомайса, ультрокса и их сочетания на показатели липидного обмена при развитии экспериментальной гиперхолестеринемии

Сердечно-сосудистые заболевания, особенно ишемическая болезнь сердца, остаются самым распространенным заболеванием во всем мире, в том числе и в Узбекистане [25; с. 10-12, 65; с. 15-17]. Более 50% смертности выпадает на долю именно этой патологии. Особую тревогу вызывает тот факт, что наряду с ростом ИБС значительно увеличилась частота заболеваемости и смертности лиц молодого и трудоспособного возраста [38; с. 4-8, 39; с. 19-23]. Поэтому борьба с данной патологией имеет общегосударственное значение.

Гиперхолестеринемия играет важную роль в патогенезе атеросклероза и ишемической болезни сердца [73; с. 184-189, 74; с. 2176-2180]. Назначение препаратов, снижающих холестерин, является приоритетным в терапии ИБС и ГХС [18; 28 с]. Наиболее эффективны в снижении уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и смертности от атеросклероза и ИБС ингибиторы 3-гидрокси-3-метил-глутарил-СоА редуктазы (ГМГ-СоА редуктаза) (статины) [178; с. 1173-1178]. У многих статинов эффективная терапевтическая суточная доза обуславливает возникновение побочных эффектов – повышение печеночных ферментов аспаргиновой и аланиновой трансаминаз (АЛаТ, АСаТ), миалгию, миопатию с повышением креатинфосфокиназы (КФК) [160; с. 225-231]. Поэтому проводится поиск новых статинов с более низкой суточной дозой, более безопасных, пролонгированного действия и эффективных по ХС-снижающему действию. С каждым годом увеличивается количество исследований, направленных на поиск альтернативных гиполипидемических средств. Среди них ведущее место занимают препараты природного происхождения.

В процессе коррекции экспериментальной гиперхолестеринемии мы наблюдали за изменением их массы (табл. 9).

Таблица 9

Динамика изменения масса животных гиперхолестеринемией после коррекции Биомайсой, статином и сочетанно (г, n=12)

Группа	Интакт	Дни исследования		
		70	80	90
Биомайса	2554,2±217,8	2183,3±93,1	2278,1±97,05	2233,3±122
Статин	2554,2±217,8	2095,8±187	2113,3±158,8	2251,7±111,1
Сочетанное	2554,2±217,8	2225±114,5	2269,7±99,4	2166,7±80,7

Примечание: различия относительно данныз интактной группы незначимы ($P > 0,05$)

После 30 –ти дней применения поликомпонентного БАД Биомайсы масса животных была на 4,5% выше, чем на 10-ый день коррекции. После применения статина масса кроликов повысилась на 156 г по сравнению с 1-ым днём коррекции. Это можно объяснить с улучшением рецепторного захвата ЛПОНП и проникновением ЖК в клетку.

Показатели липидного обмена после введения Биомайса и ультрокса снизили (табл.4.2) повышенное после заправки холестерином содержание ОХС в 2 и 1,5 раза ($P < 0,05$), соответственно, по сравнению с нелеченной группой. Сочетанное введение ультрокса и Биомайса более выражено снизило этот показатель в 2,25 раза по сравнению с нелеченной группой.

Важно отметить, что в группах, получавших ультрокс и Биомайсу, показатели снижения общего ХС были сходными. После лечения животных сочетанием препаратов наблюдалось достоверное отличие снижения уровня общего ХС от показателей монотерапий на 7,75–26,8% ($p < 0,05$), что указывает на хорошую

холестерин снижающую эффективность сочетания ультрокса с Биомайсой (табл.10)

Таблица 10

Влияние Биомайса и ультрокса на показатели липидного обмена при экспериментальной гиперхолестеринемии (n=6)

Показатели	Контрольная группа	Животные с ЭГ	После лечения		
			УльтроКСом	Биомайсой	сочетанного лечения
ОХС	71,8±0,78	295±1,45	142±0,66***	179±1,77***	131±1,2***
ТГ	14,6±0,6	28,1±0,36	29,4±0,66	37,3±0,54***	25,6±0,12***
ХС ЛПВП	26,7±0,98	17,8±0,8	29,6±0,7***	25,3±1,08***	34,8±0,75***
ХС ЛПОНП	2,92±0,07	6,98±0,15	5,9±0,22**	7,46±0,21	5,12±0,68***
ХС ЛПНП	40,8±0,86	270,3±2,8	106,7±0,68***	146±1,88***	91,1±0,14***
КА	1,37±0,02	15,6±0,43	3,83±0,14***	6,16±0,12***	2,76±0,44*

Примечание: * - различия относительно данных группы животных с ЭГ значимы (* - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$)

Установлено повышение содержания триглицеридов (ТГ) у животных ГХС в 1,92 раза ($P < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Лечение ультроКСом достоверных изменений в содержании ТГ не вызвало. Под влиянием Биомайсы оно увеличивалось на 32,7%, а при их сочетании снижалось на 8,9% от показателя нелеченной группы. Следовательно, ультроКС и Биомайса, а также их сочетание особого влияния на содержание ТГ не оказывают. Наши данные совпадают с данными Ю.И.Рагино и соавторов, изучавших действие симвагли на модели гиперхолестеринемии у кроликов [44; с. 5-11].

Уровень ХС-ЛПВП у животных с ГХС исходно снизился на 33,4% от контроля. После ультрокса и Биомайсы его содержание повысилось на 66,3 и 42,1%, соответственно, а после сочетанного применения препаратов на 30,3 и 95,5% превышало показатели контроля и нелеченной группы.

Экспериментальная ГХС достоверно в 2,4 раза повысило содержание ХС-ЛПОНП ($P < 0,001$). Ультрокс снизил его содержание на 15,5%, Биомайса - достоверных изменений не вызвала. Совместное введение ультрокса и Биомайсы снизило содержание ХС-ЛПОНП на 26,7% от нелеченой группы. Результаты работы подтверждают данные [61; с. 691–703, 62; с. 55–58] об эффекте фармакологического синергизма при комплексировании некоторых фармакологических соединений.

Экспериментальная ГХС более выражено увеличивала содержание ХС-ЛПНП по сравнению от контроля группой ($270,3 \pm 2,8$ при контроле $40,78 \pm 0,86$ мг/дл, $p < 0,05$). После лечения ультроксом и Биомайсой в течение 30 дней приводит к снижению содержания ХС-ЛПНП в 2,53 и 1,85 раза соответственно по сравнению с нелеченной группой. Необходимо подчеркнуть, что сочетание ультрокса и Биомайсы оказалось более эффективным по сравнению введения их в отдельности. Сочетанное введение снизило содержание ХС-ЛПНП в 2,97 раза по сравнению с нелеченной группой. Необходимо подчеркнуть, что содержание ХС-ЛПНП было в 2,2 раза выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

При атеросклерозе важное значение имеет определение коэффициента атерогенности (КА). В нашем случае у контрольной группы этот коэффициент был равен $1,37 \pm 0,02$. Экспериментальная ГХС вызвало резкое в 11 раз. Ультрокс и Биомайса снизили КА в 4 и 2,5 раза, соответственно, по сравнению с нелеченной группой. Ещё более положительное воздействие оказало сочетанное введение препаратов, коэффициент был снижен в 5,6 раза по сравнению с нелеченной группой.

Определение АРІ поможет при выборе тактики лечения гипополидемического или гипохолестеринового.

Изучения соотношения ХС-ЛПНП/апоВ ЛПНП после введения ультрокса и Биомайса снижалось в 1,5 и 2,2 раза, соответственно, от нелеченой группы.

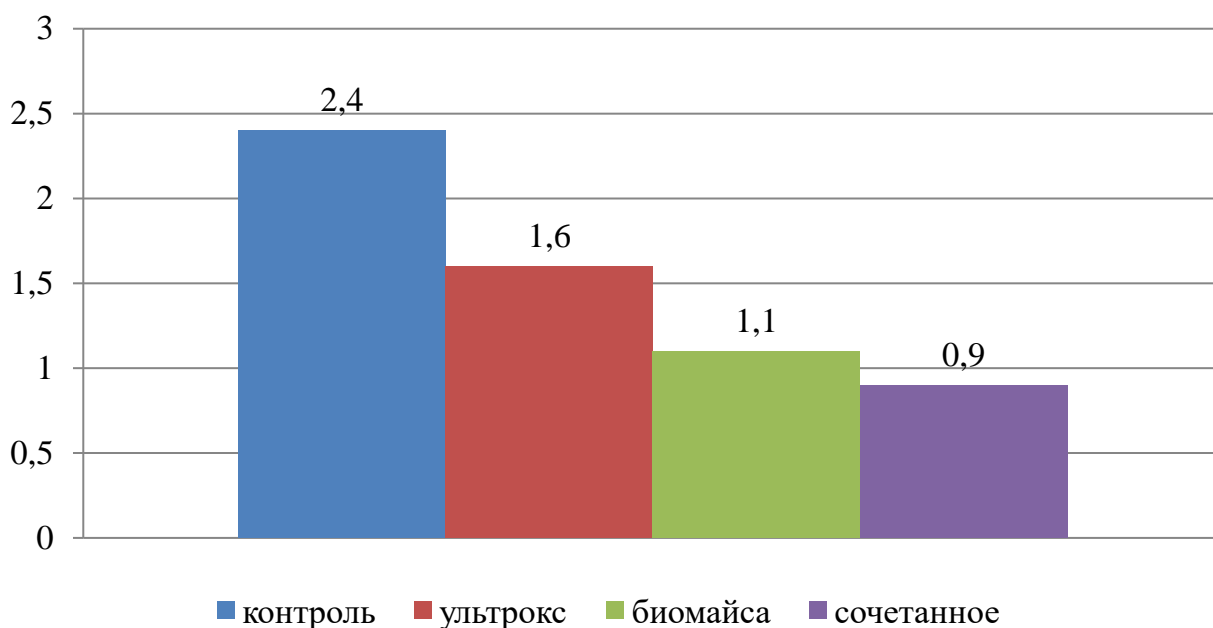


Рис. 21. Соотношение XС-ЛПНП/апоВ ЛПНП при коррекции экспериментальной гиперхолестеринемии

После сочетанного введения ультрокса и Биомайса снижение было более выраженным в 2,6 раза.

Показана предпочтительность использования значений соотношения XС-ЛПНП/апоВ ЛПНП вместо XС-ЛПНП/АпоВ при оценке размера частиц ЛПНП у здоровых лиц при нормолипидемии для прогнозирования риска развития атеросклероза.

Установленный референтный диапазон для атерогенного индекса (АТН index) и уточняющая информация по использованию XС-ЛПНП/АпоВ в качестве маркера размера частиц ЛПНП могут служить основой для разработки принципов и критериев клинической оценки и прогнозирования рисков повышения атерогенности липидного профиля крови.

Таким образом, создание поликомпонентного биологически активного вещества, обладающего гиполипидемическими свойствами, представляется актуальным не только для потенциального использования при легких формах нарушения липидного обмена, но и в сочетании со статинами для снижения дозы последних, а соответственно, и их побочных эффектов.

Результаты исследования позволили сделать несколько выводов:

1. При моделировании экспериментальной ГХС увеличивался уровень ХС атерогенных липопротеинов ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП, снижалось количество антиатерогенного ХС ЛПВП в сыворотке крови кроликов по сравнению с интактными животными.

2. Монотерапия ультроксом в дозе 0,5 мг/кг и Биомайсой статистически достоверно снижало уровни ОХС и ХС ЛПНП по сравнению с нелечеными животными.

3. Комбинированное применение препаратов достоверно и более выражено снижает уровни ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП и ОХС по сравнению с нелеченной группой.

Влияние Биомайсы, ультрокса и их сочетания на содержание Апо В при развитии экспериментальной гиперхолестеринемии

Для более точной характеристики ранних стадий липидемии, кроме определения уровня липидов крови, определяли уровень Апо В.

В 1-ой группе(интактная) концентрация в крови Апо В составила $81 \pm 0,8$ мг/дл, что соответствовало нормальным значениям, приведенным в публикациях [16; с. 17-22]. Поэтому все результаты исследований, проведенные 2-5-ой группам, сопоставлялись с данными 1-ой группы (интактная).

Уровень Апо В во 2-ой группе в среднем составил $179 \pm 1,59$ мг/дл, то есть в 2,2 раза превышало норму. Увеличение фракции Апо В указывает на нарушение Апо В -100-рецепторного эндоцитоза образуя Уровень Апо В во 2-ой группе в 2,2 раза превышал норму. Увеличение фракции Апо В указывал на нарушение Апо В – 100-рецепторного эндоцитоза, образуя гиперхолестеринемиию и поглощения печёночными клетками ЛПОНП [198; с. 1722-1734], которых не поглотили клетки, и формируют гипертриглицеридемию. Результаты исследований показали, что получавших

Биомайсу и ультрокс группам, содержание Апо В снизились в 1,4; 1,13 раза, соответственно, показателям животных с ГХС (рис.22).

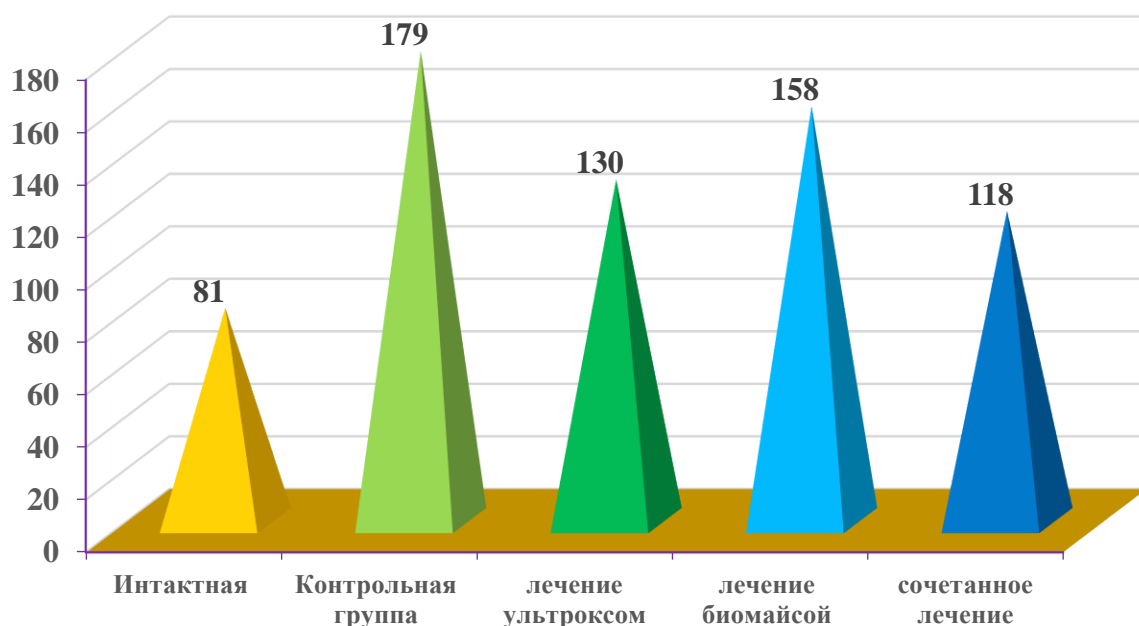


Рис. 22. Влияние Биомайса и ультрокса на содержание Апо В (мг/дл) при экспериментальной гиперхолестеринемии (n=6)

В 5 группе в сравнении с контрольной через 30 дней после сочетанного введения препаратов наблюдалось достоверное снижение уровня Апо В в 1,5 раза, что указывает на хорошее холестерин снижающее действие этого сочетания ультрокса- оно эффективно активизирует рецепторный захват ЛПНП.

Таким образом, сила воздействия сочетания ультрокса с Биомайсой превышает таковую у раздельного введения ультрокса и Биомайсы. Можно предположить, что сочетание ультрокса и Биомайсой увеличивает рецепторный захват Апо В содержащих ЛП.

Как известно, статины нормализуют гиперлипидемию следующим образом: а) активизируют поглощение ЛПОНП инсулинозависимыми клетками; б) активизируют поглощение всеми клетками ЛПНП, повышают биодоступность ПНЖК и активизируют Апо В -100-эндоцитоза [60; с. 5-6].

По результатам исследования мы сделали некоторые выводы.

1. Монотерапия ультроксом в дозе 0,5 мг/кг и Биомайсой - 142 мг/кг статистически достоверно снижает уровень Апо В по сравнению с исходным показателем.

2. Комбинированное применение обоих препаратов более выражено и достоверно снижает уровни Апо В и ОХС по сравнению с группами нелеченой и монотерапией.

Для определения степени обогащения липопротеиновых частиц триглицеридами мы рассчитали соотношение ТГ к Апо В до и после введения Биомайса, ультрокса и их сочетания (рис.23).

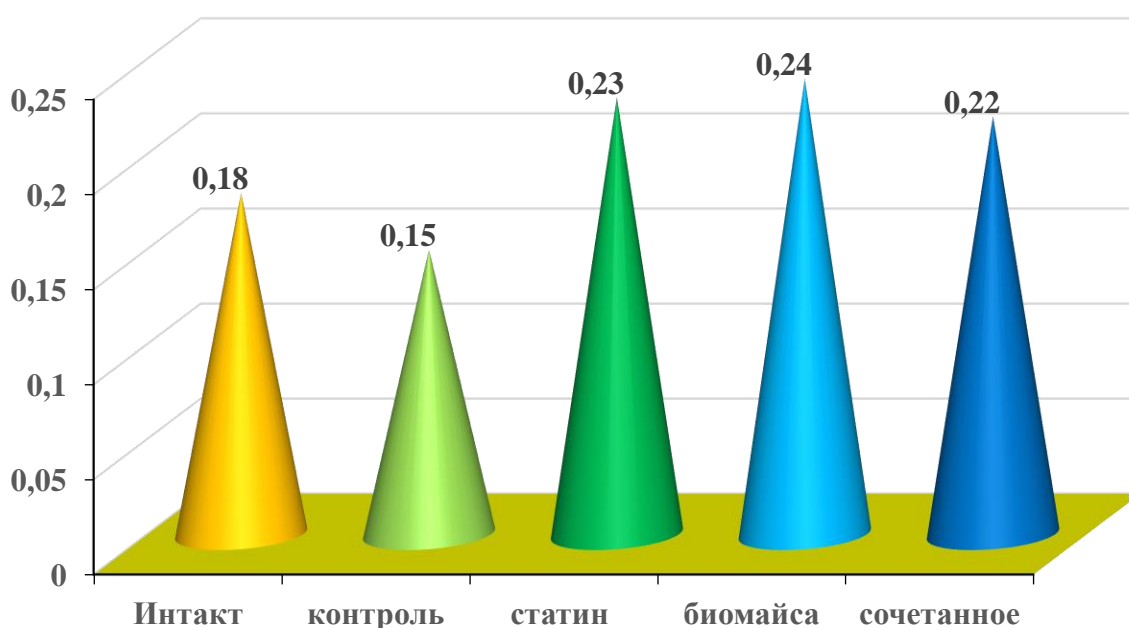


Рис. 23. Соотношение ТГ/Апо В у кроликов с экспериментальной гиперхолестеринемией после лечения Биомайсой, ультроксом и их сочетание

У животных контрольной группы отношение ТГ/Апо В составило 0,18. После кормления кроликов холестерином указанное соотношение снизилось на 16,7% от контроля. Лечение ультроксом и Биомайсой повысило соотношения ТГ/Апо В, наиболее выраженное повышение установлено в группе животных, леченных Биомайсой.

Таким образом, при развитии гиперхолестеринемии насыщенность липопротеинов триглицеридами снижается по сравнению с нормой. Лечение ультроксом и Биомайсой увеличивает выработку печенью обогащенных триглицеридами липопротеинов

Влияние Биомайса на содержание жирных кислот при развитии экспериментальной гиперхолестеринемии

Определяя влияние Биомайсы на содержание жирных кислот в сыворотке крови, мы в первую очередь изучали жирнокислотный состав пищевой добавки (*рис. 24*). В составе Биомайсы насыщенные жирные кислоты в основном представлены пальмитиновой и стеариновой кислотами. В то же время в структуре жирных кислот наиболее высокий удельный вес принадлежит линолевой (31,3%) и линоленовой кислотам (39,8%). Следовательно, существенное количество жирных кислот, в том числе ненасыщенных, приходится на долю линолевой и линоленовой кислот, которые имеют важное физиологическое значение для организма [92; с. 339-345, 129; с. 459-466, 125; с. 348-380].

Известно, что с точки зрения физиологического воздействия основной считается линолевая кислота, так как в организме она преобразуется в арахидоновую кислоту – важный элемент липидного обмена. Это преобразование происходит с участием витаминов А и Е.

Основное достоинство этих кислот – способность выводить избыточный холестерин из кровеносных сосудов и, кроме того, они обладают высоким антиоксидантным потенциалом (*рис. 24*).

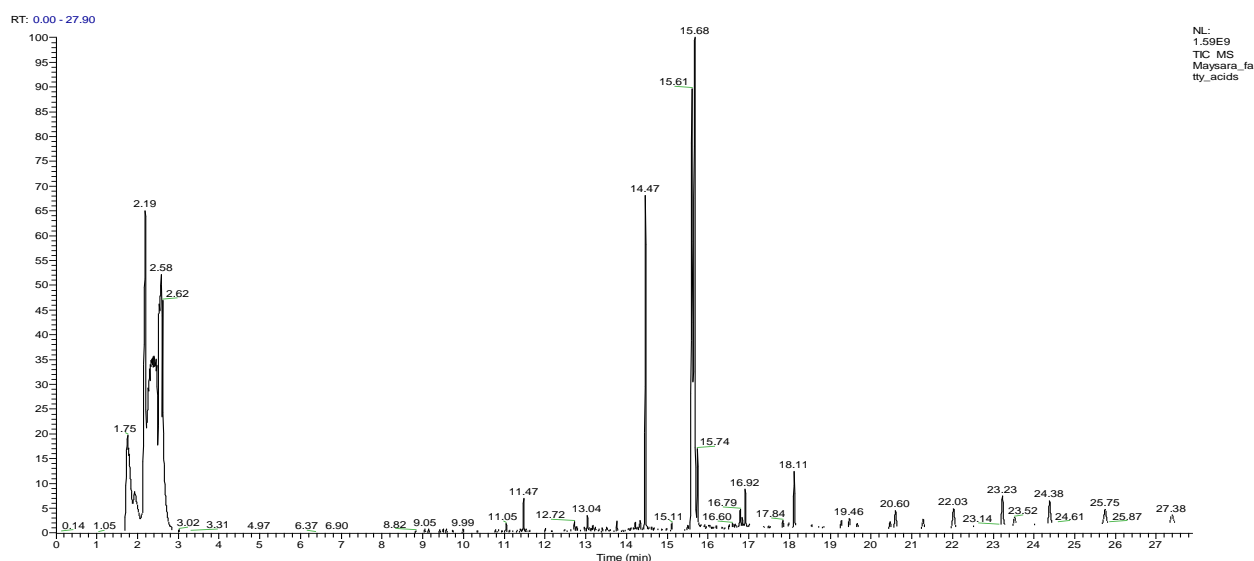


Рис. 24. Жирнокислотный состав Биомайса

Примечание. 9,73 мин – метиловый эфир декановой кислоты, 11,05 мин – эйкозан, 13,04 мин – тетрадекановая кислота, 13,76 мин – пентадекановая кислота, 14,34 мин – 9-гексановая кислота, 14,47 мин – пальмитиновая кислота, 15,61 мин – линолевая кислота, 15,68 мин – линоленовая кислота (α-форма) (омега-3), 15,74 мин – стеариновая кислота, 16,52 мин – 9-цис, 11-транс, 13-транс-октадекатриеновая кислота, 16,79 мин – 10,13-эйкозадиеновая кислота, 16,84 мин – 6,9,12,15-докозатетраеновая кислота, 16,92 мин – эйкозановая кислота.

Количественный анализ отдельных жирных кислот у животных с гиперхолестеринемией, получавших пищевую добавку Биомайсу, продукт показывал (рис. 25 и 26),

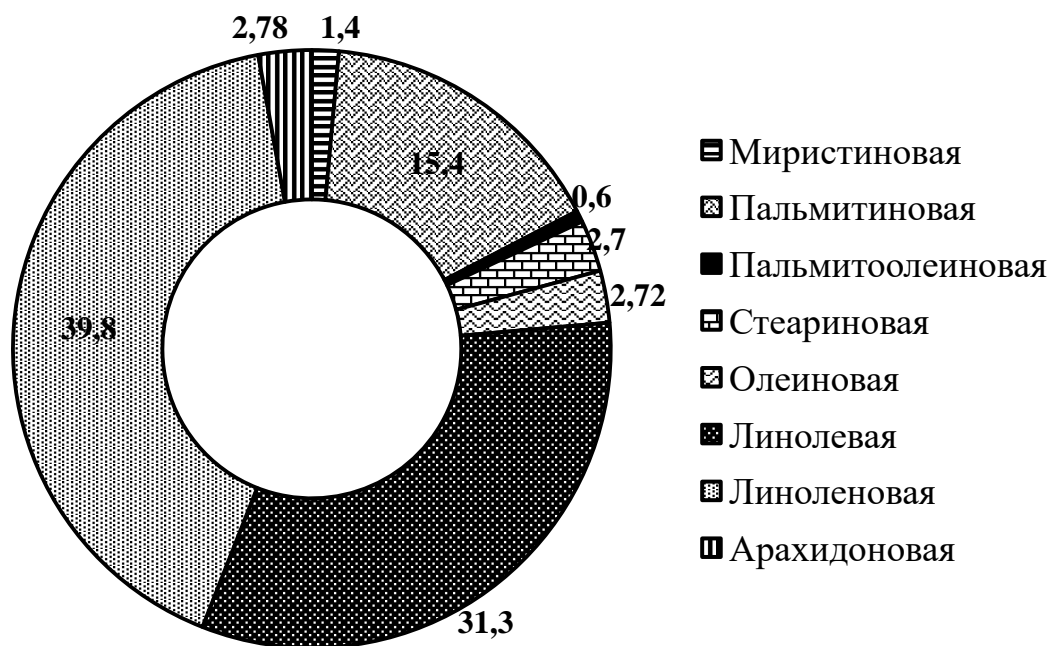


Рис. 25. Жирнокислотный состав Биомайсы на 1 мг вещества, %.

что содержание насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот (пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая и олеиновая) снижалось по сравнению с нелечеными группой животными на 46,0;64,0; 37,7 и на 20,0%, соответственно.

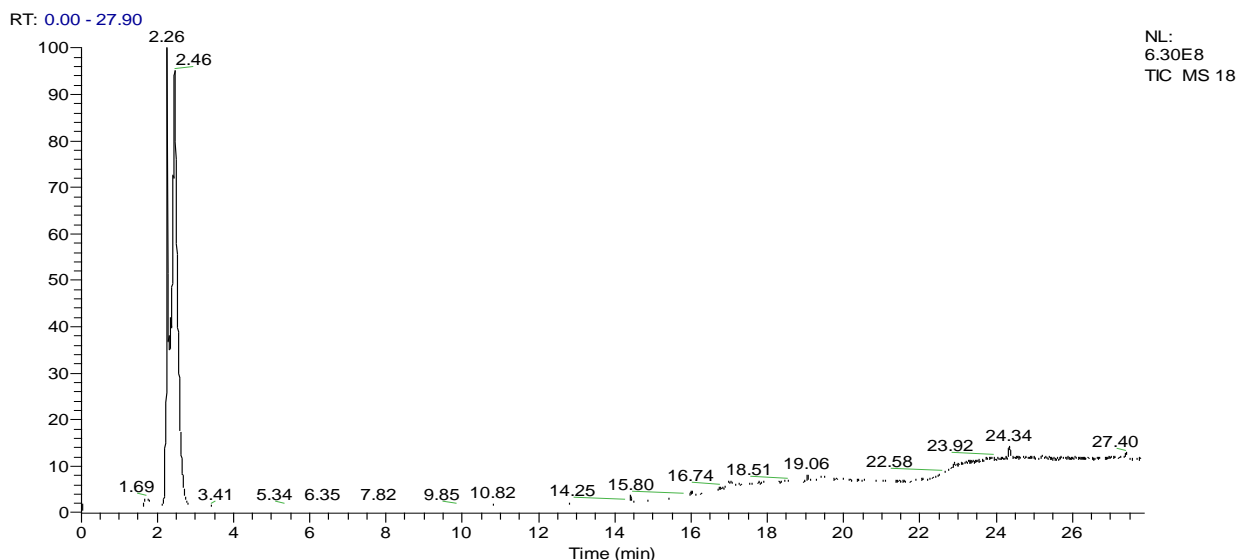


Рис. 26. Жирнокислотный состав крови экспериментальных животных с гиперхолестеринемией на фоне применения Биомайса в течение 1 месяца

Содержание полиненасыщенных жирных кислот как линолевая и линоленовая кислот, наоборот, увеличивается на 29% и на 141%, соответственно. Следовательно, Биомайса у животных с гиперлипидемией заметно снижает содержание в крови насыщенных и увеличивает - полиненасыщенных жирных кислот как линолевая и линоленовая кислоты.

Если учесть, что эти кислоты относятся семейству омега-6 и омега-3 жирных кислот, то становится очевидным их роль в обмене веществ в организме в целом, и в обмене холестерина, в частности. Видимо, выявленные нами сдвиги в жирнокислотном составе крови экспериментальных животных и лежат в основе положительных сдвигов в спектре липопротеидов низкой и высокой плотности на фоне применения пищевой добавки Биомайса.

Исследование, проведенное ранее в Республиканском научно-практическом центре спортивной медицины при Национальном Олимпийском комитете РУз у практически здоровых лиц по изучению влияния пищевой добавки Биомайса также свидетельствует о наличии аналогичной картины в жирнокислотном составе крови.

Количественный анализ отдельных жирных кислот у практически здоровых лиц, получавших пищевую добавку

Биомайсу, показал, что содержание пальмитиновой кислоты через два месяца с начало лечения уменьшается почти в два раза. В то же время содержание полиненасыщенных жирных кислот (линолевая и линоленовая) увеличивалось в 3,5 и 2,6 раза, соответственно. Содержание арахидоновой кислоты также увеличивалось (рис. 25 и 26), но менее выражено. Таким образом, мы установили, что используемая нами Биомайса у практически здоровых лиц также увеличивает в крови содержание полиненасыщенных жирных кислот, (в частности, линолевой, линоленовой и арахидиновой) что еще раз подтверждает положительное влияние этой добавки Биомайса на показатели липидного обмена.

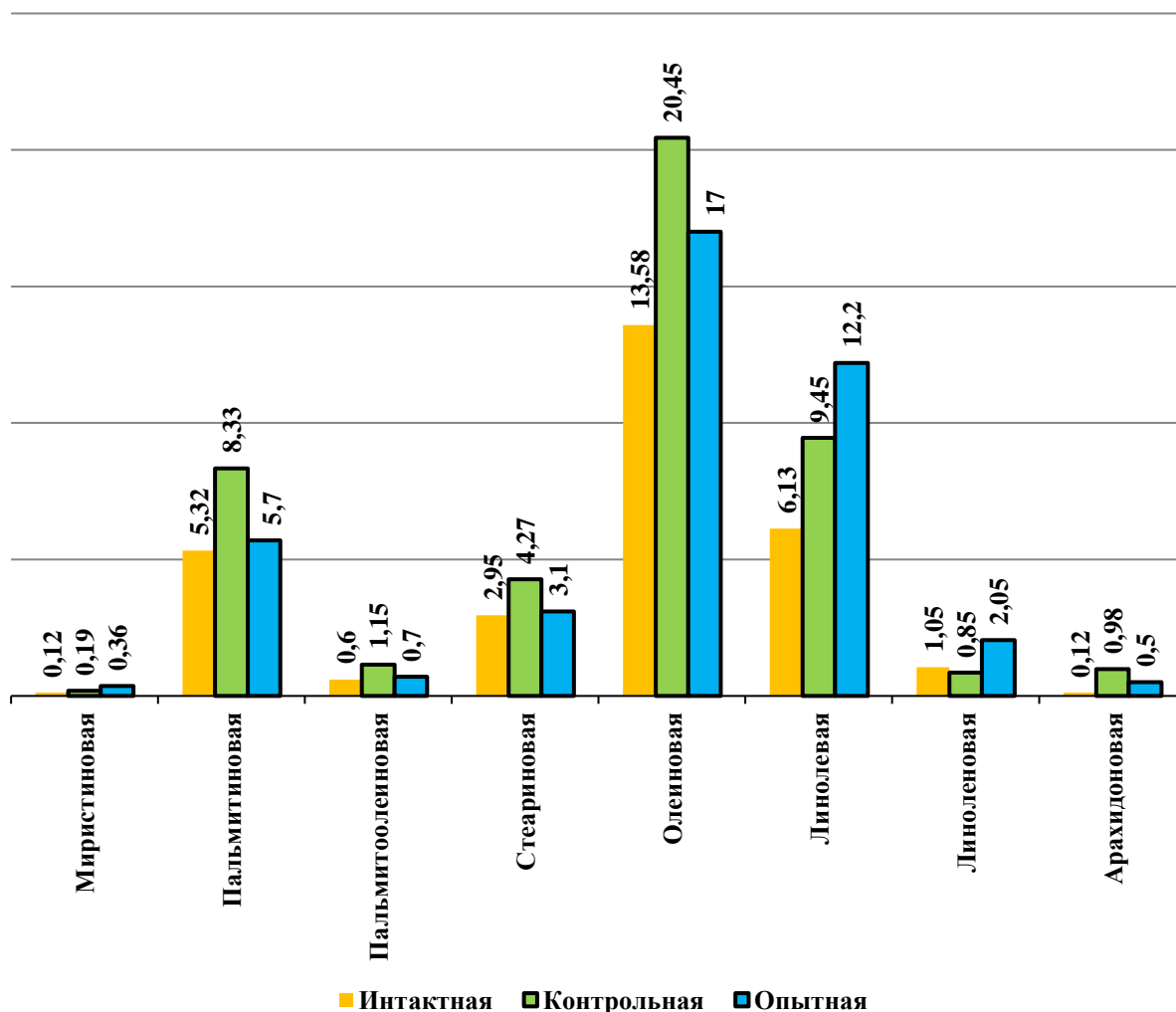


Рис. 26. Содержание отдельных жирных кислот в крови экспериментальных животных с гиперхолестеринемией на фоне применения Биомайса в течение 1 месяца

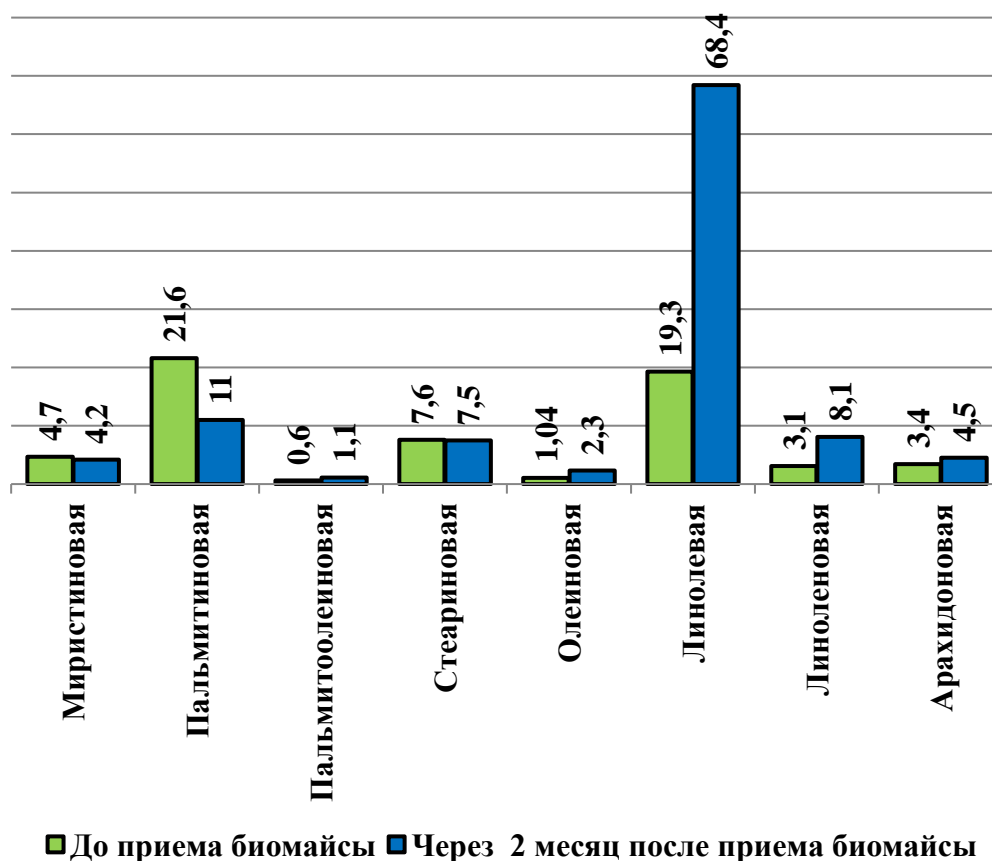


Рис.27. Содержание отдельных жирных кислот в крови практически здоровых лиц на фоне применения Биомайсы в течение 2 мес.

Таким образом, результаты исследования показали, что монотерапия гиполипидемическим препаратом ультроксом, или пищевой добавкой из зародышей пшеницы Биомайсой у животных с гиперхолестеринемией достоверно положительно влияют на холестерин липопротеидов высокой и низкой плотности. А сочетание обоих препаратов оказывает ещё более выраженный гиполипидемический эффект. При этом механизм положительного действия ультрокса не требует объяснения так как, препарат относится статинам, и их гиполипидемическое действие общеизвестно [54; с 148–83, 123; с. 2197]. Но аналогичный эффект пищевой добавки Биомайсы остается не выясненным. Пока не изучены механизмы, лежащие в основе положительного влияния этого продукта на липидный спектр крови. Возможно, это связано с благоприятным составом жирных кислот, и наличием достаточно

широкого спектра витаминов (водорастворимых, или жирорастворимых), с минеральным составом с наличием широко спектра макро- и микроэлементов. Видимо, все указанные причины составляют основу естественного продукта из зародышей пшеницы, и обуславливает полученные нами результаты по липидному обмену. Возможно, есть и другие механизмы способствующие гипополипидемическому эффекту данного продукта. Известно, что в масле зародышей пшеницы обнаружен ценный эссенциальный компонент –поликозанол [76; с. 293-297, 77; с. 695-697, 78; с. 181-185],- это смесь высокомолекулярных алифатических спиртов с длиной цепи 20- 36 атомов углерода. Основную часть этих спиртов в ростках зародышей пшеницы составляют такие алифатические спирты как октакозанол, тетракозанол и гексакозанол. Именно наличием этих алифатических спиртов обусловлены модуляция ГМГ-КоА-редуктазы, поглощение желчных кислот и частичная утилизация молочной кислоты. Поликозанол и его активные компоненты замедляют образование холестерина. Необходимо также отметить, что эти спирты целенаправленно воздействуют на метаболизм холестерина липопротеинов низкой плотности. При этом поликозанол повышает рецептор - зависимое влияние на липопротеины низкой плотности, повышая их связывание со своим рецептором. Этот процесс улучшает транспортировку липопротеинов низкой плотности в клетки печени, и соответственно, значительно усиливает расщепление и, следовательно, снижение холестерина липопротеинов низкой плотности. Кроме того, под действием поликозанолов повышается уровень липопротеинов высокой плотности. Алифатические спирты также защищают липопротеинов низкой плотности от деструктивного действия свободных радикалов. Видимо, этому же способствует и высокое содержание в них полиненасыщенных жирных кислот, которые выступают в роли акцепторов для свободных радикалов. В целом, указанные процессы препятствуют развитию атеросклеротических нарушений и обусловленным ими последствиям. Наличие такого важного компонента в составе масла

зародышей пшеницы, наряду с положительным влиянием на липидный обмен, способствует возникновению и других положительных эффектов: улучшение восприимчивости тканей к инсулину, ускорение пролиферации мышечных клеток, стимуляция потребления кислорода тканями во время физических нагрузок, улучшение нервно-мышечной функции, сокращение времени двигательной реакции, повышение физической выносливости, увеличение запасов гликогена в мышцах и снижение симптомов стресса [45; с. 38-47,46; с. 88-89]. Кроме того, в зародышах пшеницы и их жмыхе сосредоточено высокое количество пентозанов – (до 10 %), которые входят в состав широкого спектра рибонуклеиновых кислот, коферментов. Эти соединения, как и поликоназолы благотворно влияют на многие функции организма [14; с.11-12,29; с. 462,172; с. 90-91].

Анализ результатов исследований многих ученых подтвердили высокую эффективность применения продуктов из зародышей пшеницы в медицинских целях. Л.К. Дудникова и другие исследователи изучали снижение последствий диабета на организм человека [40; с. 2]. Под руководством Л. М. Яшина в Челябинском городском липидном центре изучали воздействие этих продуктов на показатели липидного спектра у пациентов с гипертонической болезнью и ишемической болезнью сердца. Было показано, что продукты из зародышей пшеницы являются эффективными средствами для лечения атеросклероза и повышения уровней антипатогенных фракций липидов, в частности холестерина липопротеидов высокой плотности. Результаты исследований И.Е. Трубициной в Центральном НИИ гастроэнтерологии (Москва) по изучению влияния масла зародышей пшеницы на желудочно-кишечный тракт показали, что применение даже одного масла примерно вдвое сокращает время заживления язвы. Применение масла зародышей пшеницы в комплексе с другими средствами существенно улучшало общее состояние больных и ускоряло процесс лечения язвенной болезни [45; с. 38-47.].

Содержания фактора Виллебранда до и после лечения Биомайсой.

Во многих случаях при атеросклерозе повышается концентрация ряда биологически активных веществ, участвующих в клеточных реакциях. Такие эндогенные факторы получили в литературе название маркеров воспаления при атеросклерозе. К ним относят С-реактивный белок (СРБ), фактор фон Виллебранда (ФВ) [88; с. 1430-1436,201; с. 1194–1197].

Активность фактора Виллебранда при ГХС превышала допустимые границы в группе контроля уже к 20 дню эксперимента на 78%, а к концу его - в 3 раза соответственно по сравнению с интактными животными. После 30 дней лечения Биомайса активность ФВ достоверно снижалась на 39,5 % (рис. 28).

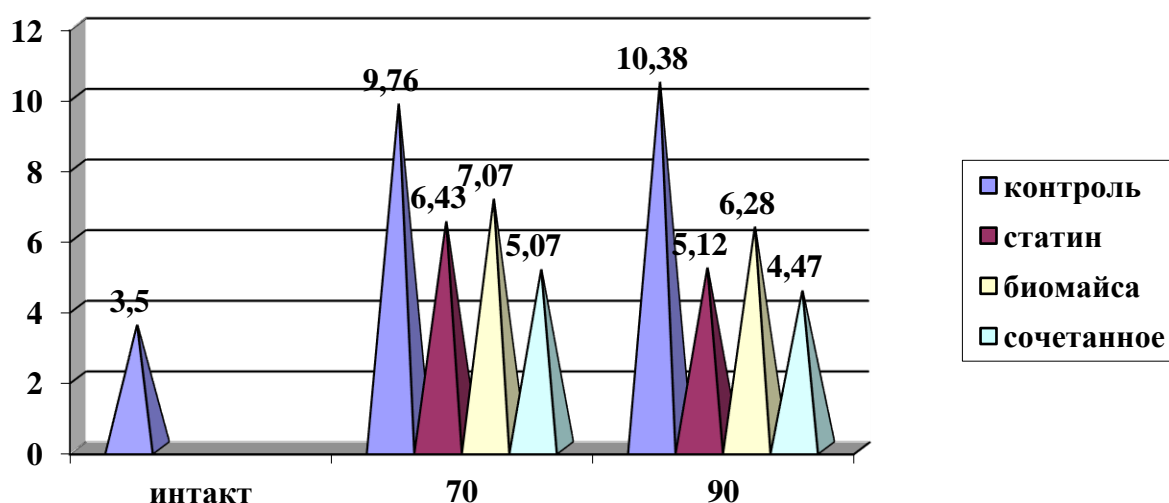


Рис. 28. Влияние Биомайса на содержание фактора Виллебранда в динамике развития гиперхолестеринемии

Статины являются основным классом лекарственных средств для лечения пациентов с гиперлипидемиями и атеросклерозом. Основное место фармакологического действия всех статинов - печень. Поэтому в клинической практике для определения действия статинов исследуется активность ферментов, специфичных для печени. Мы исследовали влияние препаратов на морфоструктуру печени в динамике развития экспериментальной гиперхолестеринемии [30; с. 944].

У животных экспериментальной гиперхолестеринемией, леченных статином, во всех морфофункциональных зонах печени в той или иной степени сохранялись признаки паренхиматозной жировой дистрофии. Трабекулы печеночных клеток были деформированны, разной толщины, местами плохо определялись. Большинство гепатоцитов - набухшие, в цитоплазме сохранялись вакуолярные образования липидного происхождения. Некоторые из них в состоянии деструкции и распада с формированием очагов липоидного фокального некроза. Центральная вена - расширена, стенка разрушена, расширение просвета продолжается в синусоиды, где в пространстве Диссе выявлены единичные лимфоидные инфильтрации. Синусоиды и пространство Диссе сужены и плохо определяются, лишь местами имеются паралитически расширенные пространства Диссе. Центральная вена также расширена, в просвете содержит белковую массу и эритроциты, стенка утолщена за счет плазматического пропитывания и пролиферации перицитов.

В печени отдельных животных в перипортальных зонах преобладает выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация и гиалиново-капельная белковая дистрофия гепатоцитов (рис. 29). Но в третьей функциональной зоне сохраняются признаки паренхиматозной жировой дистрофии разной степени.

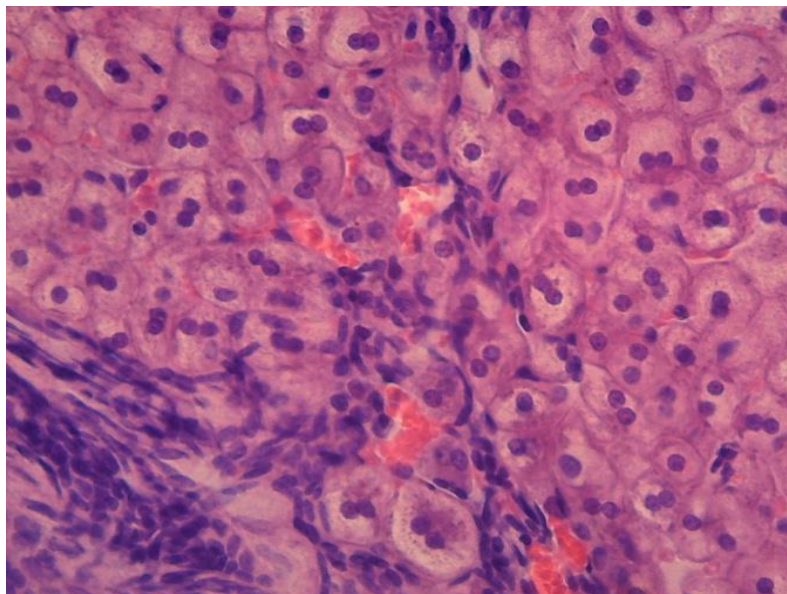


Рис. 29. Перипортальная воспалительная инфильтрация и белковая дистрофия гепатоцитов. Окр: Г-Э. Ув: ок.10, объект.40.

Трабекулы печеночных клеток деформированы, разной толщины, местами плохо определяются. Большинство гепатоцитов набухшие, в цитоплазме сохраняются вакуолярные образования липидного происхождения. Некоторые из них - в состоянии деструкции и распада с формированием очагов липоидного фокального некроза. Синусоиды и пространство Диссе сужены и плохо определяются.

При лечении кроликов с экспериментальной гиперхолестеринемией Биомайсой морфофункциональное состояние ткани печени приобрело оптимальное состояние без каких-либо патоморфологических изменений, кроме незначительного очагового разрыхления гепатоцитов и незначительной перипортальной воспалительной инфильтрацией (*рис. 30*).

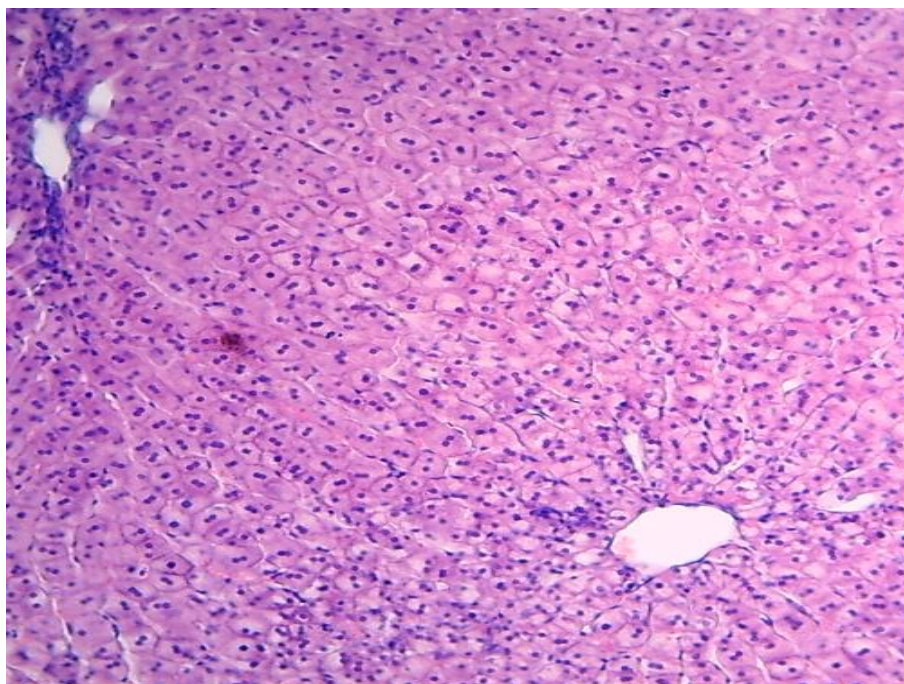


Рис. 30. Нормализация паренхимы печени, умеренное расширение вен.

Окр: Г-Э. Ув: ок.10, объект. 10.

Центральная вена также в оптимальном состоянии, стенка её тонкая без признаков дистрофии и воспаления. Лишь некоторые гепатоциты вокруг центральной вены в цитоплазме сохраняют небольшие светлые вакуолы. Синусоиды и пространства Диссе также умеренно расширены какой-либо патологией. Лишь отмечается

незначительная гипертрофия Купферовских клеток. Портальные тракты и их сосуды хорошо выявляются, стенки их тонкие без клеточной инфильтрации и склероза. Центральная вена немного расширена, заполнена кровью, стенка представлена только одним слоем эндотелиальных клеток. Печеночные балки ровные, расположены радиально к центральной вене.

Печеночные клетки имеют почти одинаковые размеры и окрашиваемости, их ядра расположены в центре клетки и имеют округлую форму. Среди гепатоцитов увеличилось количество двухядерных клеток с широкой цитоплазмой. В ней нет жировых капель, а имеется мелкозернистая белковая масса, окрашенная эозином в красный цвет (*рис. 31*).

Таким образом, Биомайса оказало эффективное положительное действие на печень, без развития какой-либо патологии, печеночная ткань приобрела оптимальное морфофункциональное состояние.

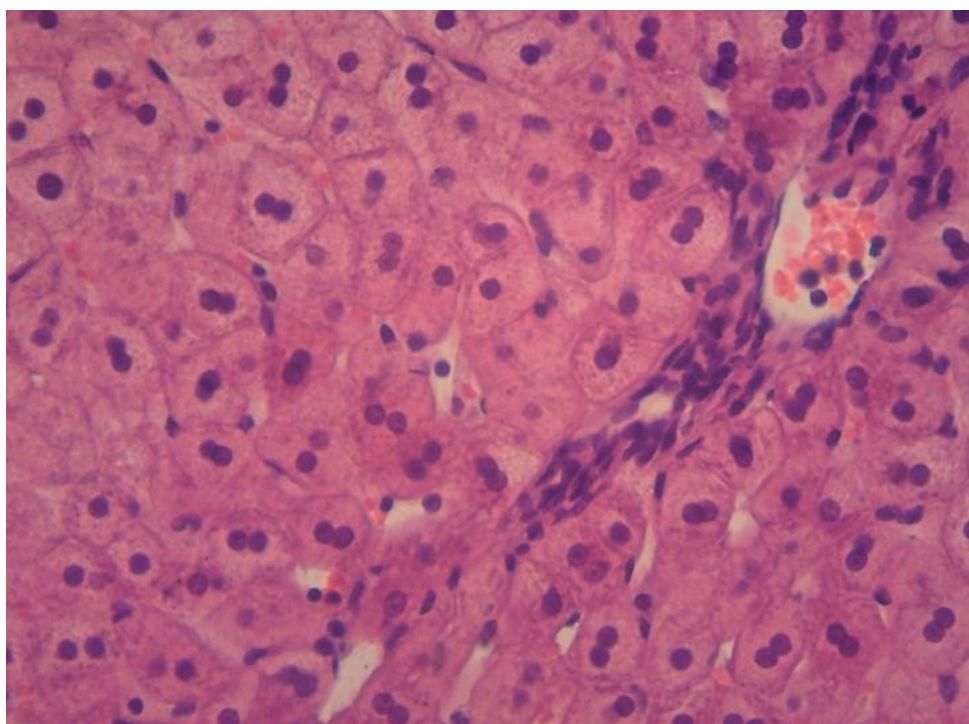


Рис. 31. Незначительная лимфоидная инфильтрация вокруг триад, увеличение двухядерных гепатоцитов. Окр: Г-Э. Ув: ок.10, объект. 10.

При сочетанном лечении ультроксом и Биомайсой в ткани печени сохранялись небольшие очаги паренхиматозной жировой дистрофии. Очаги жировой дистрофии выявлялись гепатоцитов в третьей функциональной зоне ткани печени. Отдельные гепатоциты - набухшие за счет наличия в цитоплазме жировых капель. Основная масса гепатоцитов не содержит липидных капель, но в цитоплазме сохранялся отек и набухание за счет гидропической дистрофии. Синусоиды и пространство Диссе сужены, Купферовские клетки сдавлены, без пролиферативной активности. Центральная вена расширена, стенка её утолщена за счет фибриноидного набухания и плазморагии базальной мембраны. Этот процесс проникал в стенку прилежащих синусоидов. Цитоплазма - мелкозернистая, эозинофильная, ядро расположено в центре клетки, встречаются двухядерные гепатоциты. Между печеночными балками отмечались гипертрофия Купферовских клеток и единичные лимфоциты. Центральная вена несколько расширена, полнокровна, стенка тонкая, представлена одним слоем эндотелиальных клеток с гипертрофированными ядрами (рис. 32).

В печени отдельных животных данной серии сохранились единичные гепатоциты с жировой дистрофией, расположенных во 2- и 3- ый функциональных зонах ткани печени. Здесь также, в основной массе гепатоцитов в цитоплазме имеется гидропическая дистрофия. Причем водная дистрофия в гепатоцитах расположена в перинуклеарной зоне цитоплазмы. Поэтому ядра некоторых гепатоцитов находятся в состоянии кариопикноза и кариолизиса. Центральная вена также оставалась расширенной, стенка её еще больше утолщена за счет плазморагии и склероза; склерозаирование стенки синусоидов в глубь паренхимы печени.

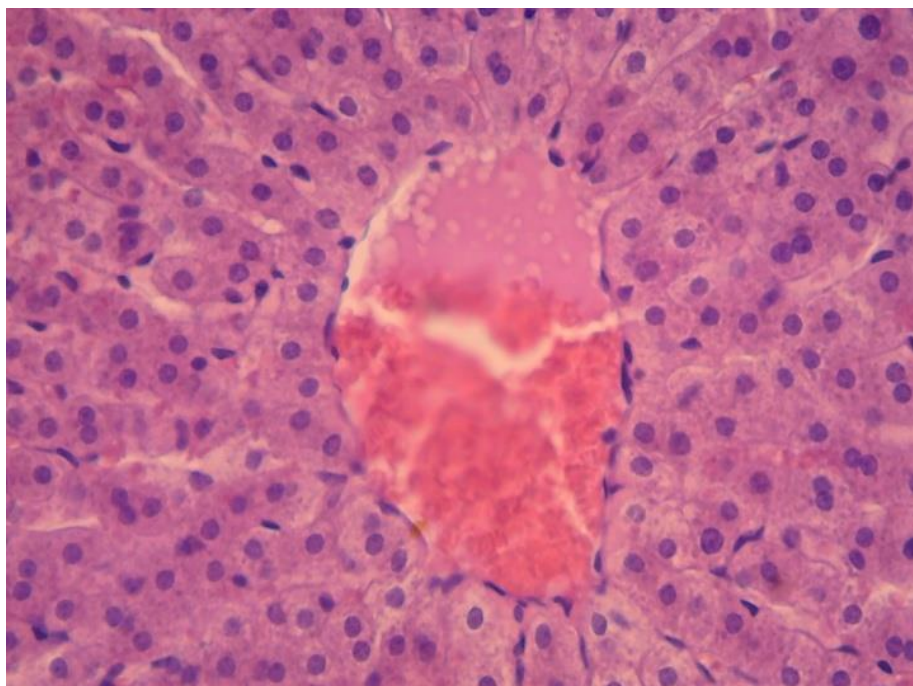


Рис. 32. Расширение центральной вены, гипертрофия купферовских клеток. Окр: Г-Э. Ув: ок.10, объект. 40.

Таким образом, при сочетанном лечении ультроксом и Биомайсой морфологические изменения в печени характеризуются минимальными признаками дистрофии лишь в третьей морфофункциональной зоне долек, умеренным воспалительным и склеротическим процессами по ходу триад.

Общая гистоархитектоника ткани печени приобрела оптимальное морфофункциональное состояние.

Монотерапия ультроксом в дозе 0,5 мг/кг и Биомайсой статистически достоверно снизил уровни ОХС и ЛПНП по сравнению с нелеченной группой животных. При комбинированном применении использованных препаратов установлено достоверное снижение уровня ЛПНП, ЛПОНП и ОХС от показателя нелеченой группы.

Кроме того, достоверно снижался уровень Апо В. Комбинированное использование обоих препаратов достоверно и более выражено снижало уровни Апо В и ОХС от показателя нелеченных животных.

При развитии гиперхолестеринемии насыщенность липопротеинов триглицеридами было ниже нормы. Лечение ультроксом и Биомайсой увеличению продукции печенью обогащенных триглицеридами липопротеинов у животных экспериментальной гиперхолестеринемией.

Анализ жирнокислотного состава крови у животных с гиперхолестеринемией, получавших пищевую добавку Биомайсу показал, снижение содержания насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот (пальмитиновая, пальмитоолеиновая, стеариновая и олеиновая) на 46,0; 64,0; 37,7 и на 20%, соответственно. Содержание же полиненасыщенных жирных кислот (линолевая и линоленовая) наоборот, увеличивалось на 29 и на 141%, соответственно от исходного. Следовательно, у животных с гиперлипидемией Биомайса заметно снижает содержание в крови насыщенных и увеличивает - полиненасыщенных жирных кислот.

Лечение Биомайсой эффективно действовало на печень: печеночная ткань приобрела оптимальное морфофункциональное состояние. При сочетанном лечении морфологические изменения в печени характеризовались минимальными признаками дистрофии лишь в третьей морфофункциональной зоне долек, умеренным воспалительным и склеротическим процессами по ходу триад, а общая гистоархитектоника ткани печени приобрела оптимальное морфофункциональное состояние.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания справедливо называют эпидемией XX века, которая, к сожалению, продолжается и в 21 веке. В течение многих десятилетий они являются ведущей причиной смертности населения в индустриально развитых странах, в том числе и в Узбекистане [37; с. 4-8].

К группе сердечно-сосудистых заболеваний относят ишемическую болезнь сердца (ИБС), инсульт, поражения периферических артерий и ряд других заболеваний. В структуре смертности от сердечно-сосудистых заболеваний около 85-90% приходится на долю инсульта и ИБС [23; с. 4-8,170; с. 1-12]. Ведущая роль в патогенезе этих заболеваний принадлежит атеросклерозу.

Многочисленные экспериментальные, клинические и эпидемиологические исследования убедительно свидетельствуют о ключевой роли дислипотеинемий (ДЛП) в патогенезе атеросклероза и его клинических проявлений [34; с. 254,152; с. 546-555,114; с. 329-342].

Предполагается, что одной из главных причин развития вышеперечисленных гипертриглицеридемий являются нарушения в системе образования и транспорта неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК) в плазме крови [64; с. 43-49,71; с. 2,133; с. 695-697,189; с. 554-622].

Изучение механизмов патогенеза и совершенствование методов лечения атеросклероза по-прежнему остаются актуальными проблемами современной медицинской науки.

Разработки отечественных и зарубежных учёных показали, что комплексные молекулярно-клеточные исследования механизма действия препаратов растительного происхождения и отечественного производства для лечения атеросклероза имеют первостепенное значение в практической медицине.

Цель нашей работы - изучить влияние клеточно-молекулярных механизмов действия БАД «Биомайса» на развитие экспериментальную гиперхолестеринемию.

Для определения степени развития экспериментальной гиперхолестеринемии у животных в динамике определяли содержание показателей липидного обмена.

Содержание общего холестерина в сыворотке крови интактных животных составило $71,8 \pm 0,78$ мг/дл. На 20 –ый день введения холестерина в организм кроликов содержание общего холестерина увеличивалось в 2,45 раза от интактных животных. В последующие сроки эксперимента (40-, 60-, 70-, 80- и 90-ый дни) содержание общего холестерина достоверно увеличивается в 3,2; 4,1; 4,2; 4,3 и 4,4 раза, соответственно. Это указывало на стойкое развитие гиперхолестеринемии у экспериментальных животных.

Среднее содержание ХС ЛПВП у интактных животных составило $26,7 \pm 0,98$ мг/дл. В динамике развития гиперхолестеринемии оно снижалось на 21,35; 22,4; 33,4; 39,3% соответственно, 20-, 40-, 60-, 70-му дням эксперимента. На 80- и 90 –ый день эксперимента происходит дефицит ХС ЛПВП, ещё более углублялся и был ниже нормы в 2 и 2,3 раза.

Исследование содержания ХС ЛПОНП показало его увеличение во все сроки эксперимента; на 20-, 40- и 60-ые дни оно было выше в 1,87 - 2,4 раза, а на 80- и 90- ый дни - 5,2 и 5,5 раза по сравнению с интактными животными.

Во все сроки развития экспериментальной гиперхолестеринемии резко повышалось содержание ХС ЛПНП. На 20-ый день оно было в 3,6 раза выше нормы, а на 40-90-ый дни – в 5-9 раз по сравнению с интактными животными.

Таким образом, в зависимости от степени развития гиперхолестеринемии ослаблялось связывание холестерина ЛПВП, особенно к концу эксперимента. Содержание же ХС в ЛПОНП и ЛПНП увеличивалось уже с первых дней введения холестерина кроликам.

На 20- и 40- ой день развития гиперхолестеринемии содержание триглицеридов увеличивалось в 1,8 и 2,3 раза по сравнению с интактными животными. С 70-го дня и до конца развивался резкий избыток их содержания.

Коэффициент атерогенности резко увеличивался в первые сроки, 5,2 раза превышая норму: к концу эксперимента был выше контроля в 16,5 и 19 раз.

Увеличивалось содержание и Апопротеина В показало, что при экспериментальной гиперхолестеринемии происходит динамичное увеличение содержания Апо В во все сроки исследования за исключением 40- и 90-го дня исследования. Увеличение фракции Апо В указывает на нарушение Апо В-100-рецепторного эндоцитоза и поглощения клетками ЛПОНП [80; с. 662-668, 93; с. 85-88, 199; с. 1722—1734], которых не поглотили клетки, и формируют гипертриглицеридемию.

Количественный анализ отдельных жирных кислот у животных с гиперхолестеринемией выявил увеличение содержания насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот (пальмитиновой, пальмитоолеиновой, стеариновой и олеиновой) повышалось на 56,3, 91,6, 44,7 и 50,60% соответственно. А содержание полиненасыщенных жирных кислот (линоленовая), снижалось на 20%.

Морфологические исследования печени показали, после моделирования экспериментальной гиперхолестеринемии в ней четко прослеживаются грубые дистрофические изменения – белково-жировая дистрофия с признаками хронического гепатита с минимальной активностью на фоне серозного отека, нарушения внутриклеточного дыхания и фосфорилирования. К концу наблюдения патологический процесс в печени усугублялся из-за прогрессирования дистрофии. Жировой дистрофия была ещё более выражена, сохраняясь, имели большую степень выраженности. Цитоплазма гепатоцитов - резко разрежена, грубозерниста; определялась гипохромия ядер. В большинстве образцов печени установлена гидропическая дистрофия. Цитоплазма клеток - прозрачная, характерен подчеркнутый контур гепатоцитов за счет хорошо различимых мембран. На фоне сохраняющейся пылевидной дистрофии гепатоцитов выявлялись клетки с цитоплазмой, полностью заполненной нейтральным жиром. В большинстве

образцов отмечались признаки хронического гепатита минимальной степени активности, которые к концу ещё более усугублялись. Поиск признаков фиброза в ткани печени кроликов показал в препаратах, окрашенных по Ван-Гизону, разрастание соединительной ткани, расширение крупных портальных трактов за счет утолщения стромы, формирование соединительно-тканых тяжей из триад к центральной вене.

Таким образом, экспериментальная гиперхолестеринемия сопровождается нарушением транспорта холестерина, гиперлипидемией, бесконтрольным поступлением липопротеидов в стенку сосудов, освобождением холестерина из молекулы ЛПНП и нарушением выведения его из клетки сосудистой мембраны: задержка утилизации холестерина в печени способствует возникновению атеросклероза.

Лечение ультроксом и Биомайсой снизило содержание ОХС в 2,1 и 1,5 раза ($P < 0,05$), соответственно, по сравнению с контрольной группой. Сочетанное введение препаратов более выражено снизило содержание ОХС - в 2,25 раза.

У животных, получавших монотерапию ультроксом и Биомайсой, показатели снижения общего ХС были сходными. После сочетанного введения препаратов наблюдалось достоверное отличие в снижении уровня общего ХС на 7,75–26,8%, ($p < 0,05$), что указывало на хорошую холестерин - снижающую эффективность сочетания обоих препаратов, которая превышает показатели монотерапии.

Результаты исследования показали, что ультрокс и Биомайса, а также их сочетание особого влияния на содержание ТГ не оказывают.

После монотерапии ультроксом и Биомайсой содержание ХС-ЛПВП повысилось на 66,3 и 42,1%, соответственно исходного. Необходимо отметить, что сочетанное введение препаратов более выражено повышало содержание ХС-ЛПВП – на 30,3 и 95,5%, соответственно, от показателей контрольной и нелеченой групп.

Лечение ультроксом снижает содержание ХС-ЛПОНП на 15,5%, а после Биомайса - достоверных изменений показателя не наблюдалось. Но сочетанное введение препаратов снижало содержание ХС-ЛПОНП на 26,7% от исходного.

Аналогично, но более эффективно оба препарата в сочетании снижали содержание ХС-ЛПНП в 3 раза по сравнению с нелеченой группой. Необходимо подчеркнуть, что содержание ХС-ЛПНП в 2,23 раза выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Монотерапия ультроком и Биомайсой позволили, снизить КА в 4 и 2,5 раза, соответственно, от исходного; сочетание препаратов - в 5,6 раза по сравнению с нелеченой группой.

Предпочтительность использования соотношения ХС-ЛПНП/АпоВ ЛПНП вместо ХС-ЛПНП/апоВ при оценке размера частиц ЛПНП у здоровых лиц с нормолипидемии для прогнозирования риска развития атеросклероза. При экспериментальной гиперхолестеринемии атерогенный индекс плазмы уже к 20 –му дню эксперимента повысился в 1,5 раза, а к 90-му -3,5 раза по сравнению с интактными кроликами. Неоднородность липопротеинов обуславливает необходимость проводить не только количественную, но и качественную оценку липидного профиля крови. Соотношение ХС-ЛПНП/АпоВ ЛПНП при введении ультрокса и Биомайсы снижается от контроля в 1,5 и 2,2 раза, соответственно, а после сочетанной терапии – в 2,6 раза.

По результатам нашего исследования можно сделать заключение о том, что создание поликомпонентного биологически активного вещества, обладающего гиполипидемическими свойствами, представляется актуальным не только для потенциального использования его при легких формах нарушения липидного обмена, но и в сочетании со статинами с целью снижения дозы последних, соответственно, и их побочных эффектов.

Исследование содержания апопротеина В после коррекции также показало, наибольшую эффективность сочетания ультрокса и Биомайсы. Можно предположить, что такое сочетание увеличивает рецепторный захват Апо В - содержащих ЛП.

Снижение уровня Апо В и ОХС было более выраженным, чем при монотерапии и у нелеченных животных.

Количественный анализ отдельных жирных кислот у животных с гиперхолестеринемией, получавших пищевую добавку Биомайсу показал, что содержание насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот (пальмитиновой, пальмитоолеиновой, стеариновой и олеиновой) снижалось от исходного на 46,0, 64,0, 37,7 и на 20,0%, соответственно. Содержание же полиненасыщенных жирных кислот (линолевая и линоленовая), наоборот, увеличивалось на 29 и 141%, соответственно. Следовательно, применение пищевой добавки при гиперлипидемии заметно снижает содержание в крови насыщенных и увеличивает - полиненасыщенных жирных кислот. Таким образом, мы установили, что гиполипидемический препарат ультрокс, и пищевая добавка из зародышей пшеницы - Биомайса у животных с гиперхолестеринемией достоверно положительно влияет на холестерин липопротеидов высокой и низкой плотности. Ещё больший гиполипидемический эффект достигается при сочетанном применении обоих препаратов.

Наличие поликозанола в составе масла зародышей пшеницы, наряду с положительным влиянием на липидный обмен, способствует возникновению и других положительных эффектов: улучшение восприимчивость тканей к инсулину, ускорение пролиферации мышечных клеток, стимуляция потребления кислорода тканями во время физических нагрузок, улучшение нервно-мышечной функции, сокращение времени двигательной реакции, повышение физической выносливости, увеличение запасов гликогена в мышцах и снижение симптомов стресса [46; с. 88-89]. Кроме того, в зародышах пшеницы и их жмыхе сосредоточено большое количество пентозанов (до 10 %), которые входят в состав широкого спектра рибонуклеиновых кислот, коферментов. Эти соединения, как и поликозанола, благотворно влияют на многие функции организма [78; с. 181-185].

Результаты морфологических исследований в печени после коррекции показали, что при сочетанном лечении ультроксом и Биомайсой морфологические изменения в печени характеризуются минимальными признаками дистрофии лишь в третьей

морфофункциональной зоне долек, умеренным воспалительным и склеротическим процессом по ходу триад; общая гистоархитектоника ткани печени приобретает оптимальное морфофункциональное состояние.

По результатам собственных исследований и публикаций мы разработали схему механизма действия Биомайса на экспериментальную гиперхолестеринмию. (рис.33)

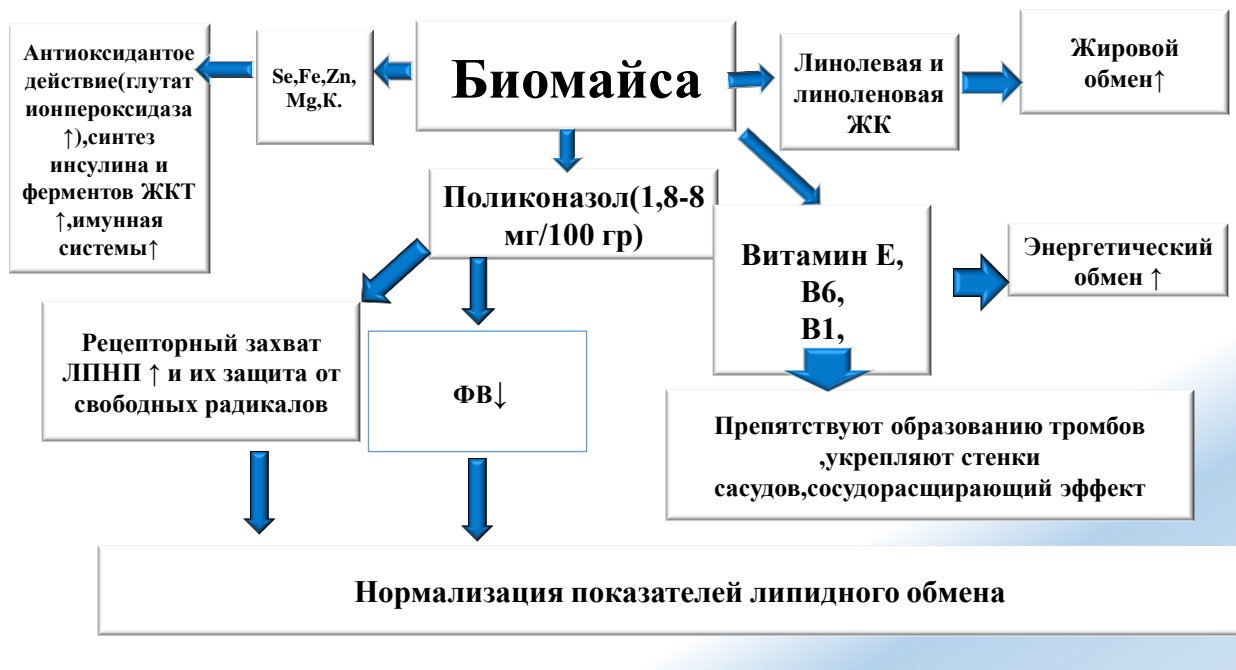


Рис. 33. Схема механизма действия Биомайсы на экспериментальную гиперхолестеринмию

Линолевая и линоленовая кислоты, содержащиеся в составе Биомайсы, положительно влияют на липидный обмен. Микроэлементы Se, Fe, Zn, Mg и K обладают антиоксидантным действием, повышают синтез инсулина и ферментов желудочно-кишечного тракта, усиливают иммунную систему организма.

Основным действующим веществом Биомайсы является поликозанол, который повышает рецепторный захват ЛПНП, защищает их от свободных радикалов, влияет на агрегацию тромбоцитов, снижает уровень ФВ, повышает восприимчивость тканей к инсулину.

ВЫВОДЫ

Результаты исследования на тему: «Влияние Биомайса на молекулярные механизмы развития экспериментального атеросклероза» позволяет сделать определенные выводы:

1. Монотерапии статином (ультрокс) в дозе 0,5 мг/кг и 142 мг/кг Биомайсой статистически значимо снижало исходно повышенное содержание ОХС и ХС ЛПНП, а их сочетанное в еще большей степени нормализует содержание холестерина ЛПНП, ЛПОНП и ОХС.
2. Лечение ультроксом и биомайсом статистически достоверно снижают уровень Апо В по сравнению с исходным показателем. Комбинированное применение обоих препаратов более выражено и достоверно снижает уровень Апо В.
3. В жирнокислотном составе крови у животных с гиперхолестеринемией содержание насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот (пальмитиновой, пальмитоолеиновой, стеариновой и олеиновой) повышается на 56,3; 91,6; 44,7; и 50,6% по сравнению с интактной группой животных. Содержание же полиненасыщенных жирных кислот (линоленовой), наоборот, снижалось на 20%.
4. После лечения пищевой добавкой Биомайсой содержание насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот - пальмитиновой, пальмитоолеиновой, стеариновой и олеиновой - снижалось от исходного на 46; 64; 37,7 и 20,0%, соответственно. Содержание же полиненасыщенных жирных кислот (линолевая и линоленовая) увеличивалось на 29 и 141%, соответственно. Таким образом Биомайса заметно нормализует содержание в крови насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот.
5. Морфологические изменения в печени экспериментальных животных к 90-му дню гиперхолестеринемии характеризуются жировой и белковой дистрофией гепатоцитов с явлениями колликвационного некроза,

гепатитом минимальной активности и начальными проявлениями фибротизации печени.

6. При сочетанном лечении ультроксом и Биомайсой морфология печени улучшается. Выявляются лишь остаточные минимальные признаки дистрофии в третьей морфофункциональной зоне долек, умеренный воспалительный и склеротический процесс по ходу триад; общая гистоархитектоника ткани печени приобретает.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрикосов А.И. Руководство по патологической анатомии в 9 т. Государственное издательство медицинской литературы, - 1956. – Т. 4, Кн. 2. – 551 с

2. Алимов А.В. Принципы семейной медицины и подготовка врача общей практики в Узбекистане // Журнал теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2006. - № 5. – С. 15-18

3. Алимов Т.К. Состав и питательность пшеничных зародышей /Алимов Т. К. // Сельское хозяйство за рубежом.–2011.- № 12.– С. 37

4. Алимухамедов Д.Ш., Шайхова Л.И., Саидова Г.Т. Пищевая и биологическая ценность соевого белкового изолята // Материалы Республиканской научно-практической конференции «Инфекция и лекарственная резистентность». - Ташкент, 2017. - С. 33-34.

5. Андреева, Ю. А. Лечебные масла / Ю. А. Андреева. – Санкт-Петербург: Гиорд, 2009. – 276 с.

6. Аничков Н.Н., С.С.Халатов. Новые данные по вопросу о патологии и этиологии атеросклероза (атеросклероза). // Рус.врач. - 1913. - №8. - С. 184-186.

7. Бойко Е.Р., Канева А.М. Апопротеин Е и его значение в клинической физиологии // Успехи физиол. наук. - 2009. Т. 40, № 1.- С. 3–15.

8. Верещагин, А.Л. Влияние ультразвукового облучения и регуляторов роста на ризогенную активность растительных объектов: монография / А.Л. Верещагин, А.Н. Хмелева; Алт. гос. техн. ун-т им. И.И. Ползунова. – Барнаул, 2010. – 74 с.

9. Вишняков А. Источник натуральных витаминов / А.Вишняков, Гадаев А.Г, Гулямова Ш.С. Обучение больных гипертонической болезнью как эффективный метод вторичной профилактики // Медицинский журнал Узбекистана. – 2006. - №4. – С. 108-1113.

10. Воевода М.И., Степанов В.А., Ромащенко А.Г., Максимов В.Н. Этногенетические особенности подверженности атеросклерозу в этнических группах Сибири (на примере гена аполипопротеина Е) // Бюл. СО РАМН. - 2006. - Т. 120, № 2. - С. 63–72.

11. Володин, В.И. Стимуляция прорастания семян с помощью ультразвука и гиббереллина: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Л., 1962. – 25 с.

12. Гадаев А.Г., Гулямова Ш.С. Обучение больных гипертонической болезнью как эффективный метод вторичной профилактики // Медицинский журнал Узбекистана. – 2006. - №4. – С. 108-113

13. Гаджиева Я.Г. Роль гиперхолестеринемии в формировании нозоструктуры заболеваемости населения // Вестник современной клинической медицины. – 2019. - Том 12, вып. – С. 145-149.

14. Гаппаров, М. Г. Функциональные продукты питания / М. Г. Гаппаров // Пищевая промышленность. – 2013. – № 3. – С. 11-12.

15. Гусева Д. А. Антиоксидантная активность растительных масел с разным соотношением омега-6 и омега-3 жирных кислот / Д. А. Гусева, Н. Н. Прозоровская, А. В. Широин // Биомедицинская химия. – 2010. - № 3. – С. 342-350.

16. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации, V пересмотр // РКЖ. – 2012. – Т.4 (прил.1)

17. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза // Краткая версия Российских рекомендаций VI пересмотр. (НОА, РКО, РосОКР). - 2017. – 74 с.

18. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. ВНОК // Кардиоваск. тер.профил. - 2007. - № 6. Приложение. - С. 28.

19. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. – СПб: Элби, 2000. – Ч. 2. Основы патохимии. – 688 с

20. Зародыш пшеницы [Электронный ресурс] Режим доступа: [http:// miragro.com/zarodysh -zhizni-vitazar. html](http://miragro.com/zarodysh-zhizni-vitazar.html). (2 сентября 2014 г.)

21.Иванова, В.В. Изучение гепатопротекторного действия растительного экстракта коры березы при экспериментальном гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом / В.В. Иванова, Ю.В. Лигостаева // Медицинские науки. – 2013. – № 3 – С. 277–279.

22.Каримов Ш.И., Суннатов Р.Д., Ирназаров А.А. Отдаленные результаты хирургического лечения хронической сосудисто-мозговой недостаточности // Ангиол и сосуд хирургия. – 2014. - Том 20, №4. – С. 111-116.

23.Климов А.Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения: руководство для врачей / А.Н. Климов Н.Г. Никульчева. – СПб: Питер Ком, 1999. – 512 с.

24.Конь И. Я. Использование полиненасыщенных жирных кислот в питании здоровых детей /И.Я.Конь // Лечащий врач. - 2011. - № 1. - С. 42-47.

25.Курбанов Р.Д. Перспективы развития кардиологии в Узбекистане // Медицинский журнал Узбекистана. – 2002. - №. 2-3. – С. 10-12.

26.Курбанов Р.Д., Мамутов Р.Ш., Умаров Р.Т.Состояние кардиологической службы республики Узбекистан на современном этапе // Кардиология Узбекистана. – 2007. - №4. – С. 10-12

27.Кухарчук В.В., Тарарак Э.М. Атеросклероз: от А.Л. Мясникова до наших дней // Кардиологический вестник. – 2010. - Том V (XVII). – С. 12-20.

28.Ланкин В.З. Антиоксиданты в профилактике и комплексной терапии атеросклероза/В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, В.В. Кухарчук // Фундаментальные исследования и прогресс кардиологии: сб. тр. науч. сессии. - М.: Маш-мир, 2002. - С. 141-146

29.Макаров В.И. Продукты питания функционального назначения методы лечения / Н. А. Беляков. – Архангельск: Сев.-Зап. изд-во, 2013. – 462 с.

30.Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов [и др.]. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

31. Морозова Т.Е., Дурнецова О.С. Препараты магния в кардиологической практике // Мед. науч.-практ. журн. «Лечащий врач». – 2014. – № 4. – С. 98-101.

32. Назаров П.Е., Мягкова Г.И., Гроза Н.В. Полиненасыщенные жирные кислоты как универсальные эндогенные биорегуляторы // Вестник МИТХТ. – 2009. – Т. 4, № 5. – С. 3–19.,

33. Никитин Ю.П., Казека Г.Р., Симонова Г.И. Распространенность компонентов метаболического синдрома X в неорганизованной городской популяции (эпидемиологическое исследование) // Кардиология. - 2001. - № 9. - С. 37–40.

34. Нестеров Ю.И. Атеросклероз: диагностика, лечение, профилактика / Ю.И. Нестеров. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2007. – 254 с.

35. Оганов Р.Г. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний врача общей практики // Кардиология Узбекистана. – 2006. - №1. – С. 17-20.

36. Оганов Р.Г., Лепяхин В.К., Фитилев С.Б., Левин А.М., Титарова Ю.Ю., Сычев Е.Н. Особенности диагностики и терапии стабильной стенокардии в Российской Федерации (международное исследование АТР — Angina Treatment Pattern) // Кардиология. – 2003. - №5. – С. 9-15.

37. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. // Кардиоваск. тер. профил. - 2002. - № 3. - С. 4–8.

38. Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я. Влияние курения на здоровье заболеваний среди трудоспособного населения России // Кардиоваск. тер. профил. - 2002. - № 3. - С. 4–8

39. Оганов Р.Г., Перова Н.В., Мамедов М.Н., Метельская В.А. Сочетание компонентов метаболического синдрома у лиц с артериальной гипертензией и их связь с дислипидемией // Терапевт. архив. - 1998. - № 12. - С. 19–23.

40. Отчет об исследовании эффективности масла зародышей пшеницы. - Москва: ГУ Городская поликлиника № 230. - 2004. – 2 с.

41. Уколов А.И., Орлова Т.И., Радилов А.С. Влияние биологической матрицы и условий хранения на определение жирных кислот плазмы крови методом ГХ-МС // Вестн. Санкт-Петерб. гос. ун-та. 2015. Сер. 4

42. Пигаревский П.В., Архипова О.Ю., Денисенко А.Д. Иммуногистохимическое обнаружение модифицированных липопротеинов в атеросклеротических поражениях аорты человека // Медицинская иммунология. – 2006. №8(5-6). – С. 637-644

43. Пикус Б., А. Спесивцев, В. Жалнин, О. Новицкий // Хлебопродукты. – 2012. - № 8. – С. 14-15.

44. Протасов Е.А. Этиология атеросклероза: пищевой холестерин (мнение о проблеме) // Кардиология: новости, мнения, обучение. - 2018. - Т. 6. № 2. - С. 91–93.

45. Рагино Ю.И., В.А. Вавилин, Н.Ф. Салахутдинов, С.И. Макарова, Е.М. Стахнева, О.Г. Изучение антиатерогенных эффектов симвагли на модели гиперхолестеринемии у кроликов // Атеросклероз. - Т.6, №1. - С. 5-11.

46. Родионова Н.С., Алексеева Т.В., Корыстин М.И. Формирование функциональной направленности рационов для организованного питания // Сервис в России и за рубежом. – 2012. - № 5. - С. 38-47.

47. Родионова, Н. С. Разработка рецептур смесей для панировки мясных и рыбных полуфабрикатов / Н. С. Родионова, Т. В. Алексеева, О. А. Соколова // Международный научно-исследовательский журнал. - 2013. – № 7. - С. 88-89.

48. Рустамов Б.Б., Эрматов Н.Ж. Пищевая ценность красного пальмового масла // Медицинские новости. – 2016. – №12. – С. 65–67.

49. Сажина Н.Н., Евтеева Н.М., Титов В.Н. Константы скорости реакций взаимодействия озона с пальмитиновой, олеиновой и другими жирными кислотами. Роль озонлиза в метаболизме жирных кислот // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – Том 63 (8). – С. 460–465.

50.Современные аспекты функционального питания. Клиническая эффективность масла зародышей пшеницы: методическое пособие для специалистов по питанию. Ч. 2 / под ред. Л.А. Шпагиной. Новосибирск, - 2008. -34с.

51.Творогова М.Г., Рожкова Т.А., Семенова О.А. и др. Аполипопротеин Е и активность переноса эфиров холестерина при гиперлипидемии IIa и IIb типов // Терапевт. архив. - 1997. - №12. - С. 30–33.

52.Титов В. Н. Атеросклероз — проблема общей биологии: нарушение биологических функций питания и эндоэкологии // Успехи соврем. биол. – 2009. – Том 129 (2). – С. 124-143

53.Титов В. Н. Филогенетическая теория общей патологии. Патогенез метаболических пандемий // Артериальная гипертензия. - М.: ИНФРАМ, 2014. - С. 204.

54.Титов В.Н. Кинетические параметры окисления озоном индивидуальных жирных кислот // Бюл. exper. биол. – 2004. – Том 138 (11). – С. 517-518

55.Титов В.Н. Статины, холестерин, жирные кислоты и диабет // Научный диалог. – 2013. – Том 3 (15). – С. 148–83

56.Титов В.Н., Амелюшкина В.А., Коткина Т.И., Ариповский А.В. 2, Этапы формирования в крови и диагностическое значение модифицированных липопротеинов низкой плотности // Журнал атеросклероз и дислипидемии. – 2016. - № 2 (23). С. 5-17

57.Титов В.Н., Ахмеджанова Х.Г., Малышев П.П.Семейная гиперхолестеринемия этиология, патогенез, диагностика и лечение. - Изд-во БИНОМ М, 2011 – 316 с.

58.Титов В.Н., Востров И.А. Ширяева Ю.К., Каба С.И. Становление в филогенезе липопротеинов низкой, очень низко плотности и инсулина. Липотоксичность жирных кислот и липидов // Позиционные изомеры триглицеридов. Успехи современной биологии. – 2012. – Том 132 (5). – С. 516–536

59.Титов В.Н., Лисицын Д.М. Жирные кислоты // Физическая химия, биология и медицина. – Тверь: Триада, 2006. – 672 с.

60. Титов В.Н., Малышев П.П., Амелюшкина В.А., Ариповский А.В., Смирнов Г.П., Полевая Т.Ю., Кабо С.И., Кухарчук В.В. Действие статинов: активация липолиза и поглощения инсулинозависимыми клетками липопротеинов очень низкой плотности, повышение биодоступности полиеновых жирных кислот и понижение холестерина липопротеинов низкой плотности // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Том 60 (10). – С. 4–12

61. Титов Владимир Николаевич. Различие конформации Апо В-100 в липопротеинах низкой и очень низкой плотности. модифицированные липопротеины и деструктивное воспаление в интима артерий // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. - № 2. – С. 27-47.

62. Толстикова Г.А., Балтина Л.А., Шульц Э.Э., Покровский А.Г. // Биоорганич. химия. - 1997. - Т. 23, № 9. - С. 691–703.;

63. Толстикова Т.Г., Сорокина И.В., Брызгалов А.О. и др. Использование нового подхода комплексообразования известных лекарственных препаратов с растительными гликозидами в профилактике и купировании острых гипертензивных состояний (экспериментальное исследование) // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2006. - № 1. - С. 55–58.

64. Торховская Т.И., Халилов Е.М., Коротаева А.А. (2007) // Бюлл. экспер. биол. Мед, - 2007. – Том 144(3). – С. 408-412.

65. Тюкавкина Н. А., Бауков Ю. И., Зурабян С.Э. Биоорганическая химия. - 2010. - 416 с.

66. Фролова Ю.В., Агеева Е.В., Виноградова Т.В., Олейник И.А., Жданова О.Ю., Зайцева Н.С., Калашникова Н.М., Денисенко А.Д. Роль активности липопротеидлипазы, гиперинсулинемии и уровня неэстерифицированных жирных кислот в развитии дислипидемий // Мед. акад. журн. – 2005. – Т5, №4. – С. 43-49.

67. Чазов Е.И. Проблемы первичной и вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний в России и СНГ // Кардиология Узбекистана. – 2006. - № 1. – С. 15-17

68. Шайхова Г.И. Рахимов Б.Б. Пропаганда принципов рационального питания при ожирении // Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2014. – С. 138-141

69. Шайхова Г.И. Медико-биологическое обоснование порошка пшеничные побеги «Майсара» при лечении ЖДА // Инфекция, иммунитет и фармакология Научно-практический журнал. – 2017. - №1. - С. 25-29

70. Шпагина Л.А. Использование масла зародышей пшеницы и Витазара в клинике внутренних болезней: методическое руководство для врачей / Л. А. Шпагина. – Новосибирск: Новосибирское книжное издательство, 2008. – 80 с.

71. Шпагиной Л.А. Современные аспекты функционального питания. Клиническая эффективность масла зародышей пшеницы: методическое пособие для специалистов по питанию. Ч. 2 / под ред. Л.А. Шпагиной. Новосибирск, 2008. – 34 с.

72. Abbitts / M. Arruzazabala, D. Carbajal // Biol. Res. – 2012. – Vol. 27. - P. 205-209.

73. Ageeva E.V., Frolova Yu.V., Denisenko A.D. The role of lipoprotein lipase activity, hyperinsulinemia and free fatty acids in genesis of dyslipidemias. Abstract of International Symposium on Atherosclerosis-2009, Boston, USA. Atheroscler. Suppl. – 2009. – Vol.10(2)

74. Ahmed, S.M. Management of dyslipidemia in adults / S.M. Ahmed, M.E. Clasen, J.E. Donnelly // Am. Fam. Physician. – 1998. – Vol. 57, № 9. – P. 2192-2204.

75. Alderman M.H. Serum uric acid as a cardiovascular risk factor for heart disease // Curr. Hypertens. Rep. - 2001. - Vol. 3, №3. - P. 184–189.

76. Anderson K., Castelli W., Levy D. // J. Am. Med. Assoc. - 1987. - Vol. 257. - P. 2176–2180.

77. Ariel A. Resolvins and protectins in the termination program of acute inflammation / A. Ariel, C. Serhan // Trends Immunol. - 2011. - Vol. 28, № 4. - P. 176-183.

78. Arruzazabala, M. Comparative study of policosanol, aspirin and the combination therapy policosanol-aspirin on platelet aggregation in healthy volunteers / M. Arruzazabala, D. Carbajal, R. Mas // *Pharmacol. Res.* – 2010. – Vol. 36. - P. 293-297.

79. Arruzazabala, M. Effect of policosanol on cerebral ischemia in mongolian gerbils: Role of prostacyclin and thromboxane Az. Prostaglandins Leuko / M. Arruzazabala, D. Carbajal, V. Molina // *Essent. Fatty Acids.* – 2012. - Vol. 49. - P. 695-697.

80. Arruzazabala, M. Effect of policosanol successive dose increase in platelet aggregation healthy volunteers / M. Arruzazabala, S. Valdes, R. Mas // *Pharmacol. Res.* – 2013. - Vol. 34. - P. 181-185.

81. Ashok S.A. Phytochemical and pharmacological screening of wheatgrass juice / S.A. Ashok. // *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research.* – 2011. – Vol. 9(1). – P. 159-164.

82. Barbagallo C.M., Rizzo M., Noto D. et al. Accumulation of apoE-enriched triglyceride-rich lipoproteins in patients with coronary artery disease // *Metabolism.* - 2006. - Vol. 55, №5. - P. 662–668.

83. Bar-Sela G., Tsalic M., Fried G. Wheatgrass Juice May Improve Hematological Toxicity Related to Chemotherapy in Breast Cancer Patients: A Pilot Study Bar-Sela G., Tsalic M., Fried G. // *Nutrition and Cancer.* – 2007. – Vol 58 (2). – P. 43-48.

84. Berger S., Raman G., et al. Dietary cholesterol and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis // *Am J Clin Nutr.* – 2015, Aug. – Vol. 102(2). – P. 276-94. doi: 10.3945/ajcn.114.100305. Epub 2015 Jun 24.

85. Berneis, K.K. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity / K.K. Berneis, R.M. Krauss // *J. Lipid Res.* – 2002. – Vol. 43, №9. – P. 1363–1379.

86. Berrish T.S., Elliott C., Cooper B.G., Reed J.W., Orskov H., Alberti K.G., Walker M. (1993) *Diabet Med.*, 10(2), 152-158.

87. Bhatt D.L., Steg P.G., Miller M., et al. Cardiovascular Risk Reduction with Icosapent Ethyl for Hypertriglyceridemia // *N Engl J Med.* – 2019. – Vol. 380. – P. 11–22. DOI: 10.1056/NEJMoa1812792.],

88. Blade A. M., Fabritius M. A., Hou L. et al. Biogenesis of apolipoprotein A-V and its impact on VLDL triglyceride secretion // *J. Lipid. Res.* – 2011. – Vol. 52 (2). – P. 237-244

89. Blann A.D. Von Willebrand factor as a marker of injury to the endothelium in inflammatory vascular disease // *J. Rheumatol.* – 1993. – Vol. 20. – P. 1469-1471.,

90. Boneu B., Abbal B., Plante J. et al. Factor VIII complex and endothelial damage // *Lancet.* – 1975. – Vol. 17. – P. 1430-1436.

91. Botham K.M., Wheeler Jones C.P. Postprandial lipoproteins and the molecular regulation of vascular homeostasis // *Progr. Lipid. Res.* – 2013. – Vol. 52(4). – P. 446-64.

92. Brochot, A. Effects of alpha-linolenic acid vs. docosahexaenoic acid supply on the distribution of fatty acids among the rat cardiac subcellular membranes after a short- or long-term dietary exposure / A. Brochot, M. Guinot, D. Auchere // *Nutr Metab (Lond).* – 2013. – Vol. 10, № 3. - P. 115-119.

93. Calder P. C. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale / P. C. Calder // *Biochimie.* - 2009. - Vol. 91, № 6. - P. 791-795. 330. doi: 10.1016/j.biochi.2009.01.008.

94. Campos H. Linolenic Acid and Risk of Nonfatal Acute Myocardial Infarction / H. Campos, A. Baylin, W. Willett // *Circulation.* - 2010. - Vol. 118. P. 339-345

95. Cardona F., Tinahones F.J., Collantes E. et al. Contribution of polymorphisms in the apolipoprotein AI- CIII-AIV cluster to hyperlipidaemia in patients with gout // *Ann. Rheum. Dis.* - 2005. - Vol. 64, № 1. - P. 85– 88.

96. Cardona F., Tinahones F.J., Collantes E. et al. The elevated prevalence of apolipoprotein E2 in patients with gout is associated with reduced renal excretion of combined effects of chemical, heat and ultrasound treatments to kill *Salmonella* and *Escherichia coli* / Scouten A.J., Beuchat L.R. Applied // *Microbiology and Biotechnology.* – 2002. – Vol. 92(4). – P. 668-674.

97. Charlton-Menys V, Betteridge DJ, Colhoun H, Fuller J, France M, Hitman GA, Livingstone SJ, Neil HA, Newman CB, Szarek M, DeMicco DA, Durrington PN. Targets of statin therapy: LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS) // *Clin Chem.* – 2009. – Vol. 55. – P. 473–480

98. Cromwell W.C. High-density lipoprotein associations with coronary heart disease: Does measurement of cholesterol content give the best result? / W.C. Cromwell // *J. Clin. Lipidol.* – 2007. – Vol. 1, №1. – P. 57-64.

99. Custodis f., Laufs U. LDL cholesterol — is there an «LDL hypothesis» Dtsch // *Med. Wochenschr.* – 2015. – Vol. 140(10). – P. 761-764.

100. Dergunov A.D., Novoselov A.V., Vislikis S. et al. The composition, structural properties and binding of very- low-density and low-density lipoproteins to the LDL receptor in normo- and hypertroglyceridemia: relation to the apolipoprotein E phenotype // *Biol. Chem.* - 2005. - Vol. 386, №5. - P. 441–452.

101. Devlin T.M. (ed). Textbook of biochemistry with clinical correlations. 4th ed. Wiley-Liss: Inc, 1997.

102. DNA-technology-based cellular assay used to measure specific biological activity in a wheatgrass extract / Reynolds. C. // *Australasian Integrative Medicine Association.* – 2005. – Vol. 7(1). – P. 37-39.

103. Dobiasova, M. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER(HDL)) / M. Dobiasova, J. Frohlich // *Clin. Biochem.* – 2001. – Vol. 34, №7. – P. 583-588.

104. Dominiczak, M.H. Apolipoproteins: metabolic role and clinical biochemistry applications / M.H. Dominiczak, M.J. Caslake // *Ann. Clin. Biochem.* – 2011. – Vol. 48, № 6. – P. 498-515

105. Dong J., Cai X., Zhao L., Xue X., Zou L., Zhang X. (2010) *Metabolomics*, 6, 478–488. DOI: 10.1007/s11306-010-0215-x

106. Ekroos K., Jänis M., Tarasov K., Hurme R., Laaksonen R. (2010) *Curr. Atheroscler. Rep.*, - 2010. – Vol. 12(4). – C. 273-281. DOI: 10.1007/s11883-010-0110-y

107. Emmerson B. Hyperlipidaemia in hyperuricaemia and gout // *Ann. Rheum. Dis.* - 1998. - Vol. 57, №9. - P. 509–510.

108. Erkkilä A.T., Lichtenstein A.H., Mozaffarian D., Herrington D.M. Fish intake is associated with a reduced progression of coronary artery atherosclerosis in postmenopausal women with coronary artery disease // *Am J Clin Nutr.* – 2004. – Vol. 80(3). – C. 626-632.

109. Evans D., Arzer J., Aberle J., Beil F. U. Rare variante in the lipoprotein lipase (LPL) gene are common in hypertriglyceridemia but rare in type III hyperlipidemia // *Atherosclerosis.* – 2011. – Vol. 214 (2). – P. 386-390.

110. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults // *JAMA.* - 2001. - Vol. 285. - P. 2486–2497.

111. Fenyo I.M., Gafencu f.V. The involvement of the monocytes/macrophages in chronic inflammation associated with atherosclerosis // *Immunobiology.* – 2013. – Vol. 218(11). – C. 1376-1384.

112. Genest, J. The Yin and Yang of high-density lipoprotein cholesterol / J. Genest // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2008. – Vol. 51, №6. – P. 643-644.

113. Gerritsen G., Rensen P.C., Kypreos K.E. et al. ApoC- III deficiency prevents hyperlipidemia induced by apoE overexpression // *J. Lipid. Res.* - 2005. - Vol. 46, №7. - P. 1466–1473.

114. González, M. Can treatment with statins have a negative influence on the tolerance of mandibular advancement devices? / M. González, E. Macías Escalada, J. Cobo, M.P. Fernández Mondragón, G. Gómez-Moreno, M. Martínez Martínez, F. de Carlos // *Sleep Breath.* – 2016. – Vol. 20, №4. – P. 1363-1366.

115. Goulinet, S. Plasma LDL and HDL subspecies are heterogeneous in particle content of tocopherols and oxygenated and hydrocarbon carotenoids. Relevance to oxidative resistance and atherogenesis / S.

Goulinet, M.J. Chapman // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – Vol. 17, №4. – P. 786-796.

116.Greenow, K. The key role of apolipoprotein E in atherosclerosis / K. Greenow, N.J. Pearce, D.P. Ramji // *J. Mol. Med. (Berl)*. – 2005. – Vol. 83, №5. – P. 329-342.

117.Graham I., Atar D., Borch-Johnsen K., Boysen G.,Burell G., Cifkova R., Dallongeville J., De Backer G.,Ebrahim S., Gjelsvik B., Herrmann-Lingen C., Hoes A.Humphries S., Knapton M., Perk J., Priori S.G.,Pyorala K., Reiner Z., Ruilope L., Sans-Menendez S.,Scholte op Reimer W., Weissberg P., Wood D., Yarnell J.,Zamorano J.L., Walma E., Fitzgerald T., Cooney M.T.,Dudina A.; European Society of Cardiology (ESC) Committee for Practice Guidelines (CPG). (2007)*Eur. // Heart. J.*, - 2007. – Vol. 28(19). – P. 2375-2414.

118.Grundy et al. 2004 Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, Pasternak RC, Smith SC Jr, Stone NJ; National Heart, Lung, and Blood Institute; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. – 2004. – Vol. 110. – P. 227-239.

119.Gutowska I., Baśkiewicz M., Machaliński B., Chlubek D., Stachowska E. Blood arachidonic acid and HDL cholesterol influence the phagocytic abilities of human monocytes/macrophages // *Ann. Nutr. Metab.* – 2010. – Vol. 57(2). – P. 143-149

120.Hattori, Y. Development of approximate formula for LDL-chol, LDL-apo B and LDL-chol/LDL-apo B as indices of hyperapobetalipoproteinemia and small dense LDL / Y. Hattori, M. Suzuki, M. Tsushima, M. Yoshida, Y. Tokunaga, Y. Wang,D. Zhao, M. Takeuchi, Y. Hara, K.I. Ryomoto, M. Ikebuchi, H. Kishioka, T. Mannami, S. Baba, Y. Harano // *Atherosclerosis*. – 1998. – Vol. 138, №2. – P. 289-299.

121.Hamstein A. The haemostatic system and coronary heart disease // *Throm. Res.* – 1993. – Vol. 70. – P. 1-38.

122.Hanak, V. Accuracy of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio for prediction of the low-density lipoprotein phenotype B / V. Hanak, J. Munoz, J. Teague, A. Stanley Jr, V. Bittner // *Am. J. Cardiol.* – 2004. – Vol. 94, №2. – P. 219-222.

123.Hansel B., Kontush A., Giral P. et al. One third of the variability in HDL-cholesterol level in a large dyslipidaemic population is predicted by sex, and triglyceridaemia: The Paris La Pitie Study // *Curr. Med. Res. Opin.* - 2006. - Vol. 22, №6. - P. 1149–1160.

124.Hilgendorf I., Swirski f.K., Robbins C.S. Monocyte fate in atherosclerosis. *Arterioscler // Thromb. Vasc. Biol.* – 2015. – Vol. 35(2). – P. 272-279

125.Hippisley-Cox J. and Coupland C. Unintended effects of statins in men and women in England and Wales: population based cohort study using the QResearch database // *BMJ.* – 2010. – Vol. 340. – C. 2197.

126.Hirano, T. Measurement of small dense low-density lipoprotein particles / T Hirano, Y Ito, G. Yoshino // *J. Atheroscler. Thromb.* – 2005. – Vol. 12, №2. – P. 67-72.

127. Hegele R.A. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications.// *Nat. Rev. Genet.* - 2009. - V. 10. - P.109-121.

128.Hodson, L. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake // L. Hodson, C.M. Skeaff, B.A. Fielding // *Prog. Lipid Res.* – 2008. – Vol. 47, №5. – P. 348-380.

129.Hussein H. Small, dense high-density lipoprotein 3 particles exhibit defective antioxidative and anti-inflammatory function in familial hypercholesterolemia:Partial correction by low-density lipoprotein apheresis/H. Hussein, S. Saheb, M.Couturier, M. Atassi, A. Orsoni A. Carriy P.Therond S.Chantepie, P.Robillard, E. Bruckert, M.J. Chapman, A. Kontush // *J. Clin. Lipidol.* – 2016. – Vol. 10, №1. – P. 124-133.

130.Ilhan f., Kalkanli S.T. Atherosclerosis and the role of immune cells // *World. J. Clin. Cases.* – 2015. – Vol. 3(4). – P. 345-352

131.Janicki K., Solski J., Janicka L. et al. Lipid and apolipoproteins disturbance in hemodialysis and renal transplantant patients // *Ann. Univ. Mariae Curie Sklodowska.* - 2004. - Vol. 59, №1. - P. 459–466.

132.Jungner, I. Does low-density lipoprotein size add to atherogenic particle number in predicting the risk of fatal myocardial infarction? / I. Jungner, A.D. Sniderman, C. Furberg, A.H. Aastveit, I. Holme, G. Walldius // *Am. J. Cardiol.* – 2006. – Vol. 97, № 7. – P. 943-946.

133.Khan M., Singh J., Singh I. Plasmalogen deficiency in cerebral adrenoleukodystrophy and its modulation by lovastatin // *J. Neurochem.* – 2008. – Vol. 106, № 4. – P. 1766–1779

134.Kucera, M. Effect of atorvastatin on low-density lipoprotein subpopulations and comparison between indicators of plasma atherogenicity:a pilot study/M.Kucera, S. Oravec, E. Hirnerova, N. Huckova, Z. Celecova, L. Gaspar, M.Banach // *Angiology.* – 2014. – Vol. 65, № 9. – P. 794-799.

135. Kothari S., Jain A.K., Mehta S.C. Hypolipidemic effect of fresh tritium aestivum (Wheat) grass Juice in hypercholesterolemic rats / Kothari S., Jain A.K., Mehta S.C. // *Acta Poloniae Pharmaceutica.* – 2011. – Vol. 68(2). – P. 291-294.

136.Leuko / M. Arruzazabala, D. Carbajal, V. Molina // *Essent. Fatty Acids.* – 2012. - Vol. 49. - P. 695-697.

137.Li L., Hossain M.A., Sadat S. et al. Lecitin cholesterol acyltransferase (LCAT) null mice are protected from diet-induced obesity and insulin resistance in a gender specific manner through multiple pathways // *J. Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 286 (20). – P. 17809-17820

138.Liberopoulos E.N., Miltiadous G.A., Athyros V.G. et al. Effect of apolipoprotein E polymorphism on serum uric acid levels in healthy subject // *J. Invest. Med.* - 2005. - Vol. 53, №3. - P. 116–122.

139.Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L “Markers of myocardial dam age and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease” // *N Engl J Med.* – 2000. – Vol. 343 (16). – P. 1139-1147.

140.Liou T.L., Lin M.W., Hsiao L.G. et al. Is hyperuricemia another facet of the metabolic syndrome // *J. Chin. Med. Assoc.* - 2006. - Vol. 69, №3. - P. 99–100.

141.Loomba, R.S. Prevention of cardiovascular disease utilizing fibrates-a pooled meta-analysis / R.S. Loomba, R. Arora // *Am. J. Ther.* – 2010. – Vol. 17, № 6. – P. 182-188.

142.Lopez S., Bermúdez B., Pacheco Y.M., LópezLluch G., Moreda W., Villar J. et al. Dietary oleic and palmitic acids modulate the ratio of triacylglycerols to cholesterol in postprandial triacylglycerolrich lipoproteins in men and cell viability and cycling in human mono cytes // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137(9). – P. 1999-2005

143.Mehta N.J., Khan I.A. Cardiology's 10 greatest discoveries of the 20th century // *Tex. Heart Inst. J.* – 2002. – Vol. 29. - P. 164—171

144.Mensink R.P. Effects of products made from a highpalmitic acid,transfree semiliquid fat or a higholeic acid, lowtrans semiliquid fat on the serum lipoprotein profile and on Creactive protein concentrations in humans // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2008. – Vol. 62(5). – P. 617-624.

145.Mercado A., Melo Z. Pathophysiological aspects of K⁺: Cl⁻ — cotransporters // *Rev. Invest. Clin.* – 2014. – Vol. 66(2). – P. 173-180

146.Millán, J. Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention / J. Millán, X. Pintó, A. Muñoz, M. Zúñiga, J. RubiésPrat, L.F. Pallardo, L. Masana, A. Mangas, A. Hernández-Mijares, P. GonzálezSantos, J.F. Ascaso, J. Pedro-Botet // *Vasc. Health Risk Manag.* – 2009. – Vol. 5. – P. 757-765.

147. Miller, M. Relative atherogenicity and predictive value of non-high-density lipoprotein cholesterol for coronary heart disease / M. Miller, H.N. Ginsberg, E.J. Schaefer // *Am. J. Cardiol.* – 2008. – Vol. 101, №7. – P. 1003-1008.

148.Mooijaart S.P., Berbee J.F., van Heemst D. et al. ApoE plasma levels and risk of cardiovascular mor- tality in old age // *PLoS Med.* - 2006. - Vol. 3, №6. - P. 176.

149.Moore J. B. Non-alcoholic fatty liver disease: the hepatic consequence of obesity and the metabolic syndrome // *Proc. Nutr. Soc.* – 2010. – Vol. 69 (2). – P. 211-220.

150.Murphy S.A., Nicolaou A. (2013) *Mol // Nutr. Food Res.* – 2013. – Vol. 57(8). – P. 1336-1346. DOI: 10.1002/mnfr.201200863

151. Nakajima K., Tanaka A. Atherogenic postprandial remnant lipoproteins; VLDL remnants as a causal factor in atherosclerosis // *Clin Chim Acta.* – 2018. – Vol. 478. – P. 200–215.

152. Onat A. “Atherogenic index of plasma” (log₁₀ triglyceride/high-density lipoprotein-cholesterol) predicts high blood pressure, diabetes and vascular events / A. Onat, G. Can, H. Kaya, G. Hergenc // *J. Clin. Lipidol.* – 2010. – Vol. 4, №2. – P. 89-98.

153. Packard, C.J. Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein / C.J. Packard // *Biochem. Soc. Trans.* – 2003. – Vol. 31, №5. – P. 1066-1069.

154. Padalia S., Drabu S., Raheja I. Multitude potential of wheatgrass juice (Green Blood): An overview / Padalia S., Drabu S., Raheja I. // *Chronicles of Young Scientists.* – 2010. – Vol. 1(2). – P. 23-28.

155. Penning T.M., Lee S.H., Jin Y., Gutierrez A., Blair I.A. (2010) // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2010. – Vol. 121(3-5). – P. 546-555. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2010.01.005

156. Perk J., De Backer G., Gohlke H., Graham I., Reiner Z., Verschuren M., Albus C., Benlian P., Boysen G., Cifkova R., Deaton C., Ebrahim S., Fisher M., Germano G., Hobbs R., Hoes A., Karadeniz S., Mezzani A., Prescott E., Ryden L., Scherer M., Syv anne M., Scholte op Reimer W.J., Vrints C., Wood D., Zamorano J.L., Zannad F.; European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR); ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). (2012) // *Eur. Heart. J.*, - 2012. – Vol. 33(13). – P. 1635-1701. DOI: 10.1093/eurheartj/ehs092

157. Perlstein T.S., Gumieniak O., Williams G.H. et al. Uric acid and the development of hypertension: the normative aging study // *Hypertension.* - 2006. - Vol. 48, №6. - P. 1031–1036.

158. Peng, D.Q. Apolipoprotein A-I tryptophan substitution leads to resistance to myeloperoxidase-mediated loss of function / D.Q. Peng, G. Brubaker, Z. Wu, L. Zheng, B. Willard, M. Kinter, S.L. Hazen, J.D. Smith // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2008. – Vol. 28, №11. – P. 2063-2070.

159.Pitsavos C., Choumerianou D.M., Skoumas J. et al. Apolipoprotein E polymorphism is not associated with lipid levels and coronary artery disease in Greek patients with familial hypercholesterolaemia // *Clin. Exp. Med.* - 2005. - Vol. 5, №4. - P. 196–201.

160.Prassi R. Human low-density lipoprotein: the mystery of core lipid packing // *J. Lipid. Res.* – 2014. – Vol. 52(2). – P. 187-188

161. Priyabrata D., Ashis M. In vitro Studies of Iron Chelation Activity of Purified Active Ingredients Extracted from *Triticum aestivum* Linn. (Wheat Grass) / Priyabrata D., Ashis M. // *European Journal of Medicinal Plants.* – 2012. – Vol. 62 (2). – P. 113-124.

162.. Provost EB, Madhloum N, Int Panis L, De Boever P, Nawrot TS. Carotid intima-media thickness, a marker of subclinical atherosclerosis, and particulate air pollution exposure: the meta-analytical evidence // *PLoS One.* – 2015. - №10 :e0127014. doi: 10.1371/journal.pone.0127014

163.Puddu P., Puddu G.M., Muscari A. // *Acta Cardiol.* - 2001. - Vol. 56. - P. 225–231

164.Quaranta, N. High total cholesterol in peripheral blood correlates with poorer hearing recovery in idiopathic sudden sensorineural hearing loss / N. Quaranta, V. Squeo, M. Sangineto, G. Graziano, C. Sabbà // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10. - P.7. – Article Number: e0133300.

165.Rainwater D.L., Shi Q., Mahaney M.C., Hodara V., Vandeberg J.L., Wang X.L. Genetic regulation of endothelial inflammatory responses in baboons // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2010. – Vol. 30(8). – P. 1628-1633

166.Riccioni G., Sblendorio V. Atherosclerosis: from biology to pharmacological treatment // *J. Geriatric. Cardiol.* – 2012. - №9. – P. 305-317.

167.Richard J., Lingvay I. Hepatic steatosis and type 2 diabetes: current and future treatment // *Exp. Rev. Cardiovasc.* – 2011. – Vol. 9 (3). – P. 321-328.

168.Ringleb P.A., Bousser M.G., Ford G. et al. European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for Management of Ischaemic Stroke and Transient Ischaemic Attack – 2008 // *Cerebrovasc Dis.* – 2008. – Vol. 25 (5). – P. 457–507

169.Rizzo, M. There is more to predicting vascular disease than just established risk factors // M. Rizzo, D.P. Mikhailidis // *Curr. Pharm. Des.* – 2011. – Vol. 17, №33. – P. 3608-3610.

170.Ruiz J., Kouiyavskaya D., Migliorini M. et al. The apoE isoform bindings properties of the VLDL re- ceptor reveal marked differences from LRP and the LDL receptor // *J. Lipid. Res.* - 2005. - Vol. 46, №8. - P. 1721–1731.

171.Spencer, J.T. Hyperlipoproteinemia in the etiology of inner ear disease / J.T. Spencer // *Laryngoscope.* – 1973. – Vol. 83, № 5. – P. 639-678.

172. Stillwell W. An Introduction to Biological Membranes. 2013. Chapter 4 – Membrane Lipids: Fatty Acids. P. 43–56

173.Shukla, A. Prevention of atherosclerosis progression using atorvastatin innormolipidemic coronary artery disease patients a controlled randomized trial / A. Shukla, M.K. Sharma, A. Jain, P.K. Goel // *Indian Heart J.* – 2005. – Vol. 57, №6. – P. 675-680.

174.Shimada, K., T. Miyazaki, H. Daida (2004) Adiponectin and atherosclerotic disease // *Clin Chim Acta.* – 2014. – Vol. 344 (1-2). – P. 1-12.

175.Sierra-Johnson, J. ApoB/apoA-I ratio: an independent predictor of insulin resistance in US non-diabetic subjects / J. Sierra-Johnson, A. Romero-Corral, V.K. Somers, F. Lopez-Jimenez, G. Walldius, A. Hamsten, M.L. Hellénus, R.M. Fisher // *Eur. Heart J.* – 2007. – Vol. 28, №21. – P. 2637-2643.

176. Singh K., Pannu M.S., Singh .P, Singh J. Effect of Wheat Grass Tablets on the Frequency of Blood Transfusions in Thalassemia Major / Singh K., Pannu M.S., Singh .P, Singh J. // *The Indian Journal of Pediatrics.* – 2010. – Vol. 77(1). – P. 90-91.

177.Singh N., Verma P., Pandey B. R. Therapeutic Potential of Organic *Triticum aestivum* Linn. (Wheat Grass) in Prevention and

Treatment of Chronic Diseases: An Overview / Singh N., Verma P., Pandey B. R. // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research. – 2012. – Vol. 4(1). – P.10-14.

178.Smelt A.Y., de Beer F. Apolipoprotein E and familial dysbetalipoproteinemia: clinical, biochemical and genetic aspects // Semin. Vasc. Med. - 2004. - Vol. 4, №3. - P. 249–257.

179.Sniderman, A.D. Putting low-density lipoproteins at center stage in atherogenesis / A.D. Sniderman, T. Pedersen, J. Kjekshus // Am. J. Cardiol. – 1997. – Vol. 79. №1. – P. 64-67.

180.Sniderman, A.D. The strengths and limitations of the apoB/apoA-I ratio to predict the risk of vascular disease: a Hegelian analysis / A.D. Sniderman, R.S. Kiss // Curr. Atheroscler. Rep. – 2007. – Vol. 9, № 4. – P. 261-265.

181.Srinivasan, S.R. Serum apolipoproteins A-I and B as markers of coronary artery disease risk in early life: the Bogalusa Heart Study / S.R. Srinivasan, G.S. Berenson // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, №1. – P. 159-164.

182.Stanczyk F.Z., Cho M.M., Endres D.B., Morrison J.L., Patel S., Paulson R.J. (2003) Steroids., 68(14), 1173-1178. DOI: 10.1016/j.steroids.2003.08.012

183.Sternficht M.D Frost J., Ramsay M., Mia R., Moosa L., Musenge E., Tikly M. Differential gene expression of MMP-1, TIMP-1 and HGF in clinically involved and uninvolved skin in South Africans with SSc // Rheumatology (Oxford). - 2012. – Vol. 51, № 6. - C. 49-52.

184.Tacke f., Zimmermann H.W. Macrophage heterogeneity in liver in injury and fibrosis // J. Hepatol. – 2014. – Vol. 60(5). – P. 1090-1096

185.Takanashi S., Sakai J., Fujino T. et al. The very low-density lipoprotein (VLDL) receptor: characterization and functions as a peripheral lipoprotein receptor // J. Atheroscler. Thromb. – 2004. – Vol. 11 (4). – P. 200-208

186.Tani, S. Low-density lipoprotein cholesterol/apolipoprotein B ratio may be a useful index that differs in statin-treated patients with and without coronary artery disease: a case control study / S. Tani, Y. Saito,

T. Anazawa, H. Kawamata, S. Furuya, H. Takahashi, K. Iida, M. Matsumoto, T. Washio, N. Kum Chapman, M.J. Atherogenic, dense low-density lipoproteins. Pathophysiology and new therapeutic approaches / M.J. Chapman, M. Guйrin, E.Bruckert // *Eur. Heart J.* – 1998. – Vol. 19 (Suppl A). – P. A24-30.

187.Taylan E. Distribution of LDL subgroups in patients with hyperlipidemia/E.Taylan, E.P. Tuncel // *Turk. J. Med. Sci.* – 2016. – Vol. 46, №2. – P. 374-380.

188.Teramoto et al. 2013 Teramoto T, Sasaki J, Ishibashi S, Birou S, Daida H, Dohi S, Egusa G, Hiro T, Hirobe K, Iida M, Kihara S, Kinoshita M, Maruyama C, Ohta T, Okamura T, Yamashita S, Yokode M, Yokote K. Executive Summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) Guidelines for the Diagnosis and Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Diseases in Japan – 2012 Version // *J Atheroscler Thromb.* – 2013, Jun 25. – Vol. 20(6). – P. 517-523.

189.TeramotoT. et al Coronary artery disease. Executive summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for the diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan--2012 version // *J Atheroscler Thromb.* – 2014. – Vol. 21(2). – P. 86-92. Epub 2013 Dec 10.

190.Terkeltaub R.A., Dyer C.A., Martin J., Curtiss L.K. Apolipoprotein (apo) E inhibits the capacity of mono- sodium urate crystals to stimulate neutrophils. Characterization of intraarticular apoE and demonstration of apoE binding to urate crystals in vivo // *J. Clin. Invest.* - 1991. - Vol. 87, №1. - P. 20–26.

191.Therapeutic Potential of Organic *Triticum aestivum* Linn. (Wheat Grass) in Prevention and Treatment of Chronic Diseases: An Overview / Singh N., Verma P., Pandey B. R. // *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research.* – 2012. – Vol. 4(1). – P. 10-14.

192.Tocci G., Goletti D., et al. Cardiovascular outcomes and tumour necrosis factor antagonists in chronic inflammatory rheumatic disease: a focus on rheumatoid arthritis // *Expert Opin Drug Saf.* – 2016. – Vol. 15, (sup.1). – P. 55–61. doi: 10.1080/14740338.2016.1218469.

193.von Schacky C., Angerer P., Kothny W. et al. The effect of dietary omega-3 fatty acids on coronary atherosclerosis.A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* – 1999. – Vol. 130(7). – P. 554- 622

194.van der Velde, A.E. Reverse cholesterol transport: from classical view to new insights // A.E. van der Velde // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16. №47. – P. 5908-5915.

195.Walldius, G. The apoB/apoA-I ratio is a strong predictor of cardiovascular risk /G. Walldius; editors S. Frank, G Kostner // *Lipoproteins in Health and Diseases.* – Rijeka: InTech, - 2012. – P. 95-148.

196.Wagner, A.M. LDL-cholesterol/apolipoprotein B ratio is a good predictor of LDL phenotype B in type 2 diabetes / A.M. Wдgner, O. Jorba, M. Rigla, E. Alonso, J. Ordycez-Llanos, A. Pйrez // *Acta Diabetol.* – 2002. – Vol. 39, №4. – P. 215-220.

197.Wen, J.H. Triglyceride to HDL-C ratio and increased arterial stiffness in apparently healthy individuals / J.H. Wen, Y.Y. Zhong, Z.G. Wen, C.Q. Kuang, J.R. Liao, L.H. Chen, P.S. Wang, Y.X. Wu, C.J. Ouyang, Z.J. Chen // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, №3. – P. 4342-4348.

198.Williams, P.T. Relationship of dietary fat, protein, cholesterol, and fiber intake to atherogenic lipoproteins in men / P.T. Williams, R.M. Krauss, S. Kindel-Joyce, D.M. Dreon, K.M. Vranizan, P.D. Wood // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1986. – Vol. 44, № 6. – P. 788-797.

199.Wu, J. Rhabdomyolysis associated with fibrate therapy: review of 76 published cases and a new case report / J. Wu, Y. Song, H. Li, J. Chen // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 65, №12. – P. 1169-1174.

200.Xua Y., Hoa W., Xud F., Wene T. Exploratory investigation reveals parallel alteration of plasma fatty acids and eicosanoids in coronary artery disease patients.// *Prostaglandins & Other 104 Lipid Mediators.* – 2013. – V.106. –P. 29–36

201. Yaldagard M., Mortazavi S.A., Tabatabaie F. The effectiveness of ultrasound treatment on the germination stimulation of barley seed and its alpha-amylase activity / Yaldagard M., Mortazavi S.A., Tabatabaie F.

// International journal of chemical and biomolecular engineering. – 2007.
– Vol. 23(1). – P. 55-64.

202. Yoshida, A. Usefulness of serum total cholesterol/triglyceride ratio for predicting the presence of small, dense LDL / A. Yoshida, M. Kouwaki, Y. Matsutani, Y. Fukuchi, M. Naito // J. Atheroscler. Thromb. – 2004. – Vol. 11, №4. – P. 215-219.

203. Zhang R., He G.Z., Wang Y.K., Ma E.L. Omega3 polyunsaturated fatty acids inhibit the increase in cytokines and chemotactic factors induced in vitro by lymph fluid from an intestinal ischemiareperfusion injury model // Nutrition. – 2015. – Vol. 31(3). – P. 508-514

204. Zheng C., Khoo C., Furtado J., Sacks F. M. Apolipoprotein C-III and them etabolic basis for hypertriglyceridemia and the denselowden sity lipoprotein phenotype // Circulation. – 2010. – Vol. 121. – P. 1722-1734

205. Zhu, X.W. Meta-analysis of Atherogenic Index of Plasma and other lipid parameters in relation to risk of type 2 diabetes mellitus / X.W. Zhu, F.Y. Deng, S.F. Lei // Prim. Care Diabetes. – 2015. – Vol. 9, №1. – P. 60-67.

206. Zwaka, T. P. C-reactive protein-mediated low density lipopro tein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis /T. P. Zwaka, V. T. Hombach, J. R. Torzevski // Circulation. – 2001. – Vol. 103, № 13. – P. 1194–1197