

С.О. Гаврилюк

ВПЛИВ ФІБРАТІВ НА ГЕМОЛІТИЧНУ СТІЙКІСТЬ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ ТА НАКОПИЧЕННЯ В НИХ ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ

Державний НДІ фізичної культури і спорту, м. Київ

Відомо, що серед ризик-факторів ішемічної хвороби серця та атеросклерозу особливе місце займає поєднане збільшення вмісту в крові загального холестеролу (ЗХС) і триацилгліцеролів (ТАГ) [5, 14, 18]. Відомі гіполіпідемічні препарати переважно знижують гіперхолестеролемію і не впливають на рівень ТАГ крові [9, 11, 17]. Тому актуальним є пошук нових засобів для корекції дисліпопротеїнемій, які б знижували рівень не лише холестерину, а й ТАГ. Такі властивості мають препарати з класу фібрatów.

Фібрати (клофібрат, безафібрат, фенофібрат, гемфіброзил, ципрофібрат тощо) розрізняються за силою дії, фармакокінетикою, наявністю тих чи інших побічних ефектів та ступенем їх вираженості. Препаратом першого покоління був етиловий ефір *n*-хлорфеноксиізомаєлярної кислоти — клофібрат (місклерон, атромід, клофібрейт, ліпамід); пізніше з'явилися препарати другого — гемфіброзил (гевілон), безафібрат (бензиліп, безамідін) та третього — фенофібрат (ліпантіл), ципрофібрат (ліпанор) покоління [8, 11].

Перші представники фібрatów (насамперед, клофібрат) мають ряд суттєвих недоліків. Так, при їх застосуванні можуть виникати розлади травлення (нудота, блювання, пронос), головний біль, м'язові болі, шкірні висипання. Особливо небезпечною є здатність клофібрату зумовлювати внутрішньопечінковий холестаза, який супроводжується утворенням каменів в жовчному міхурі та жовчних шляхах [8, 11], то-

му зараз він практично не признається. Для сучасних препаратів з групи фібрatów також властиві деякі побічні ефекти (міопатія, кволість, ускладнення з боку шлунково-кишкового тракту), залишаються застереження на прийом їх хворими на холелітіаз [11, 12, 16].

Проте в літературі відсутні порівняльні дослідження безпечності застосування різних фібрatów. Одним з показових параметрів, що характеризують ушкоджуючу дію на організм людини лікарських засобів, є їх спроможність спричинити окисний стрес в модельних системах *in vitro*.

Мета дослідження — вивчення впливу гіполіпідемічних засобів з групи фібрatów на гемолітичну стійкість мембран еритроцитів та накопичення в них продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в умовах *in vitro*.

Матеріали і методи дослідження

Вплив фібрatów (клофібрату, мікронізованого фенофібрату, безафібрату та уфібрату) на спонтанний гемоліз еритроцитів визначали за [13], робочий розчин натрію хлориду у фосфатному буфері перед використанням насичували киснем, струшуючи на повітрі. Кінцева концентрація препаратів у пробі становила 10^{-3} , 10^{-4} та 10^{-5} моль/л.

Інтенсивність процесів ПОЛ в мембранах еритроцитів оцінювали за накопиченням в них ТБК-активних продуктів, переважно, малонового діальдегіду (МДА) [1].

При підборі концентрацій препаратів виходили з того, що концентрація фібрatów в крові людей, які

отримують їх з терапевтичною метою, вкладається в основному в зазначений діапазон [10]. Зважаючи на те, що фібрати практично нерозчинні у воді, їх попередньо розчиняли в етиловому спирті.

Отримані дані обробляли статистично з використанням *t*-критерія Стьюдента [4].

Результати та їх обговорення

Як свідчать результати експериментів (табл. 1), внесення мікронізованого фенофібрату, безафібрату та уфібрату в інкубаційне середовище в кінцевій концентрації 10^{-3} , 10^{-4} та 10^{-5} моль/л істотно не впливає на спонтанний гемоліз еритроцитів; в той же час, внесення клофібрату суттєво підвищує гемоліз при всіх трьох концентраціях препарату (у 1,84-2,1 рази).

Виявлена нами прооксидантна дія клофібрату узгоджується з результатами досліджень [7], в яких спостерігався його прооксидантний ефект в середовищі з метилолеатом, а також з результатами наших попередніх експериментів, якими було встановлено, що клофібрат в концентраціях 10^{-3} та 10^{-4} моль/л значно підвищує в мітохондріях печінки щурів інтенсивність неферментативного ПОЛ, не виявляючи при цьому суттєвого впливу на ферментативне ПОЛ [2]. На нашу думку, прооксидантна дія клофібрату в еритроцитах може бути пов'язана як з безпосереднім впливом самого препарату на мембрани, так і з дією вільнорадикальних продуктів його окиснення. Відсутність впливу уфібрату в досліджуваному діапазоні концентрацій на резистентність еритроцитів до спонтанного гемолізу узгоджується з даними [3].

Досліджувані препарати різноспрямовано впливали на вміст ТБК-активних продуктів в мембранах еритроцитів (табл. 2). Так, клофібрат достовірно підвищував накопичення ТБК-активних продуктів порівняно з інтактними пробами та з контролем (етиловий спирт): в концентрації 10^{-3} моль/л — на 70,74%, в концентрації 10^{-4} моль/л — на 56,59%, а в концентрації 10^{-5} моль/л — на 54,8% по відношенню до контролю. Безафібрат в усіх трьох концентраціях не виявляв достовірного впливу на швидкість накопичення ТБК-активних продуктів в мембранах ерит-

роцитів. Уфібрат в усіх трьох концентраціях проявив виражену антиоксидантну дію у мембранах еритроцитів: при концентраціях 10^{-3} , 10^{-4}

та 10^{-5} моль/л вміст ТБК-активних продуктів знижується на 38,37%, 32,13% та 27,10%, відповідно, по відношенню до контролю.

Таблиця 1

Вплив фібратів на спонтанний гемоліз еритроцитів людини ($M \pm m$, $n=7$)

Характер дослідження	Спонтанний гемоліз, %
Інтактні еритроцити	22,9±5,4
Інтактні еритроцити + спирт (контроль)	26,3±5,1
Інтактні еритроцити + клофібрат: 10 ⁻³ моль/л	55,2±8,3*
10 ⁻⁴ моль/л	52,7±8,5*
10 ⁻⁵ моль/л	48,5±8,2*
Інтактні еритроцити + мікронізований фенофібрат: 10 ⁻³ моль/л	26,1±6,0
10 ⁻⁴ моль/л	24,4±6,3
10 ⁻⁵ моль/л	25,3±5,9
Інтактні еритроцити + безафібрат: 10 ⁻³ моль/л	27,9±6,8
10 ⁻⁴ моль/л	25,7±7,3
10 ⁻⁵ моль/л	25,9±8,0
Інтактні еритроцити + уфібрат: 10 ⁻³ моль/л	27,5±6,2
10 ⁻⁴ моль/л	24,9±6,8
10 ⁻⁵ моль/л	26,1±6,7

Примітка: в цій та табл. 2 * — $P < 0,05$ по відношенню до варіанту "Інтактні еритроцити + спирт (контроль)"

Таблиця 2

Вплив фібратів на накопичення ТБК-активних продуктів в мембранах еритроцитів ($M \pm m$, $n=7$)

Характер дослідження	ТБК-активні продукти, нмоль на 10 ⁶ еритроцитів
Інтактні еритроцити	3,94±0,27
Інтактні еритроцити + спирт (контроль)	4,17±0,25
Інтактні еритроцити + клофібрат: 10 ⁻³ моль/л	7,12±0,31*
10 ⁻⁴ моль/л	6,53±0,29*
10 ⁻⁵ моль/л	6,08±0,23*
Інтактні еритроцити + мікронізований фенофібрат: 10 ⁻³ моль/л	3,25±0,26*
10 ⁻⁴ моль/л	4,41±0,38
10 ⁻⁵ моль/л	4,37±0,33
Інтактні еритроцити + безафібрат: 10 ⁻³ моль/л	4,29±0,36
10 ⁻⁴ моль/л	4,01±0,43
10 ⁻⁵ моль/л	4,22±0,27
Інтактні еритроцити + уфібрат: 10 ⁻³ моль/л	2,57±0,17*
10 ⁻⁴ моль/л	2,83±0,20*
10 ⁻⁵ моль/л	3,04±0,22*

Мікронізований фенофібрат достовірно (на 22,06%) знижує в мембранах еритроцитів вміст ТБК-активних продуктів лише у найвищій концентрації (10^{-3} моль/л).

Резистентність еритроцитів до спонтанного гемолізу в аеробному середовищі пов'язують із вмістом в цих клітинах ендogenous вітаміну Е [13]. Імовірно, активація вільнорадикальних процесів в мембранах еритроцитів під впливом клофібрату призводить до зменшення вмісту в них вітаміну Е, що, у свою чергу, сприяє зниженню резистентності еритроцитів до спонтанного гемолізу та суттєво підвищує швидкість останнього.

Уфібрат та мікронізований фенофібрат виявляють певну антиоксидантну активність при застосуванні у хворих на хронічну ішемічну хворобу серця, причому уфібрат має більш виражену порівняно з мікронізованим фенофібратом антиоксидантну дію [6].

Виходячи з цього, можна припустити, що висока токсичність клофібрату, яка стала основною причиною його обмеженого на сьогодні клінічного застосування, зумовлена певною мірою спроможністю спричиняти в організмі оксидативний стрес, виснаження антиоксидантної системи організму та ушкодження мембранних структур клітини. З іншого боку, найбільш безпечні фібрати останнього покоління — мікронізований фенофібрат та уфібрат, навпаки, мають антиоксидантну активність і захищають клітинні мембрани від ушкоджуючої дії вільних радикалів.

Отримані нами результати свідчать, що даний метод може бути використаний для дослідження *in vitro* нових сполук з гіполіпідемічною дією.

Висновки. В концентраціях 10^{-3} , 10^{-4} та 10^{-5} моль/л *in vitro* мікронізований фенофібрат, безафібрат та уфібрат не впливають на спонтанний гемоліз еритроцитів людини, а клофібрат значно (у 1,8-2,1 рази) підсилює його. Уфібрат та меншою мірою мікронізований фенофібрат виявляють антиоксидантні властивості в еритроцитах, клофібрат — прооксидантні, а безафібрат не виявляє достовірного впливу на швидкість накопичення ТБК-активних продуктів в мембранах еритроцитів.

ЛИТЕРАТУРА

1. Банкова В. В., Прищепова Н. Ф., Авратинский О. И. Способ оценки изменений плазматической мембраны у детей при различных заболеваниях // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1987. — № 3. — С. 78-81.
2. Гаврилюк С. О. Дослідження антиоксидантної та антирадикальної активності фібратів *in vitro* / Педагогіка, психологія та медико-біологічні проблеми фізичного виховання і спорту (за ред. Єрмакова С.С.). — Харків: ХДАДМ (ХХП), 2007. — № 7. — С. 163-164.
3. Гриневиц Ю. П., Олійник С. А., Туманов В. А., Войціцький В. М. Вплив уфібрату на хемілюмінесцентні показники плазми крові та еритроцитів // Доповіді НАН України. — 2003. — № 1. — С. 172-176.
4. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — Киев: Морион, 2000. — 320 с.
5. Лутай М. І., Мітченко О. І. Діагностика, профілактика та лікування дисліпідемій. — В кн.: Серцево-судинні захворювання / за ред. В. М. Коваленка, М. І. Лутая. — Київ: ТОВ "ГРА "Здоров'я України", 2005. — С. 62-88.
6. Назар П. С., Олійник С. А., Гаврилюк С. О. та ін. Дослідження гіполіпідемічної та антиоксидантної активності уфібрату в умовах експерименту та клініки // Вісник пробл. біол. і мед. — 1999. — Вип. 6. — С. 150-157.
7. Никитина Э. К. Сравнительное изучение гиполлипидемического и антиоксидантного действия мисклерона, компламина и S-метилметионина сульфония хлорида (вит. "U") у больных ишемической болезнью сердца / Автореф. ... дис. канд. мед. наук. — М., 1983. — 17 с.
8. Davidson M. H., Bays H. E., Stein E. et al. Effects of fenofibrate on atherogenic dyslipidemia in hypertriglyceridemic subjects // Clin. Cardiol. — 2006. — V. 29, № 6. — P. 268-273.
9. Evand A. T. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults // JAMA. — 1993. — V. 269. — P. 3015-3023.
10. Fairhurst A. S., Wikie G., Plabody J. Clofibrate, calcium and cardiac muscle // Arch. Int. Pharmacodyn. and Ther. — 1982. — V. 256, N 1. — P. 59-75.
11. Florentin M., Liberopoulos E. N., Mikhailidis D. P., Elisaf M. S. Fibrate-associated adverse effects beyond muscle and liver toxicity // Curr. Pharm. Des. — 2008. — V. 14, № 6. — P. 547-587.
12. Fruchart J. C., Duriez P. Mode of action of fibrates in the regulation of triglyceride and HDL-cholesterol metabolism // Drugs Today (Barc.). — 2006. — V. 42, № 1. — P. 39-64.
13. Jager F. C. Determination of Vitamin E requirement in rats by mean of spontaneous haemolysis *in vitro* // Nutr. Dieta. — 1968. — V. 10, № 3. — P. 215-223.
14. Inoue Y., Yamada N. Lipids and abnormalities in the lipid metabolism // Nippon Rinsho. — 2007. — V. 65, Suppl. 7. — P. 7-10.
15. Robillard R., Fontaine C., Chinetti G. et al. Fibrates // Handb. Exp. Pharmacol. — 2005. — V. 170. — P. 389-406.
16. Rubins H. B., Robins S. J., Collins D. et al. Distribution of lipids in 8,500 men with coronary artery disease // Am. J. Cardiol. — 1995. — V. 75, № 17. — P. 1196-1201.
17. Sachs F. M. Lowering LDL cholesterol levels reduced fatal coronary agents in patients with acute MI and average cholesterol levels // ACP J. Club. — 1997. — V. 126. — P. 2-29.
18. Yamada N. Dyslipidemia // Nippon Rinsho. — 2004. — V. 62, № 6. — P. 1021-1027.

С. О. Гаврилюк

ВЛИЯНИЕ ФИБРАТОВ НА ГЕМОЛИТИЧЕСКУЮ СТОЙКОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ И НАКОПЛЕНИЕ В НИХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

В условиях *in vitro* показано, что микронизированный фенофибрат, безафибрат и уфибрат не влияют на спонтанный гемолиз эритроцитов человека, а клофибрат значительно (в 1,8-2,1 раза) усиливает его. Уфибрат и в меньшей степени микронизированный фенофибрат проявляют антиоксидантные свойства в эритроцитах; клофибрат — прооксидантные, а безафибрат не оказывает достоверного влияния на скорость накопления ТБК-активных продуктов в мембранах эритроцитов.

S. O. Gavriljuk

INFLUENCE OF FIBRATES ON ERYTHROCYTES MEMBRANES HEMOLITIC RESISTANCE AND ON ACCUMULATION IN THEM LIPID PEROXIDATION PRODUCTS

It is established, that micronized phenofibratum, bezafibratum and ufibratum *in vitro* do not influence on a erythrocytes membranes spontaneous hemolysis, and clofibratum considerably (in 1,8-2,1 times) enhances it. Ufibratum and to a lesser degree micronized phenofibratum show antioxidatic properties in erythrocytes; clofibratum - prooxidative, and bezafibratum does not render reliable influence on rate of TBA-reactive producta accumulation in erythrocytes membranes.