

Исследование влияния фитоэкдистерона на выраженность окислительного стресса при гипоксии у крыс

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Рязань

Резюме. В исследовании на беспородных белых крысах-самцах изучено влияние фитоэкдистерона, выделенного из смолёвки поникшей (*silene nutans*) и смолёвки татарской (*silene tatarica*), на выраженность окислительного стресса при острой гипоксической гипобарической гипоксии средней степени тяжести. Гипоксию моделировали путем подъема животных на высоту 8000 м со скоростью 50 м/с и экспозицией 30 мин. Установлено, что ежедневное назначение интактным крысам фитоэкдистерона *per os* в дозе 5 мг/кг массы в течение 7 дней приводит в мозге к повышению активности глутатионпероксидазы, а в печени – к повышению активности каталазы и уменьшению содержания малонового диальдегида. Показано, что ежедневное пероральное введение фитоэкдистерона в дозе 5 мг/кг массы в течение 7 дней перед гипоксией приводит к снижению выраженности органных проявлений окислительного стресса. По антиоксидантному влиянию на головной мозг и миокард фитоэкдистерон сопоставим с известным препаратом метаболического действия милдронатом, а по влиянию на печень даже его превосходит.

Ключевые слова: фитоэкдистерон, гипоксия, перекисное окисление липидов, окислительный стресс, милдронат, головной мозг, миокард, печень.

Введение. Гипоксия – типовой патологический процесс, лежащий в основе патогенеза большинства заболеваний. Дефицит кислорода в организме приводит к мобилизации и напряжению его адаптационных реакций и механизмов. При их перенапряжении и истощении развиваются выраженные метаболические нарушения, которые сопровождаются активизацией свободно-радикальных процессов и развитием окислительного стресса, что в свою очередь ведет к повреждению и даже гибели клеток [4]. Разработка новых лекарственных веществ, обладающих выраженным антиоксидантным действием, позволит повысить устойчивость организма к недостатку кислорода и таким образом улучшит течение многих заболеваний [5].

Экдистероиды – это группа полигидроксилированных стероидов, участвующих в регуляции жизнедеятельности многих организмов. Являясь у насекомых гормонами линьки [6], в организме млекопитающих они оказывают разнообразные позитивные эффекты: повышают физическую работоспособность, обладают анаболическим, гиполипидемическим, антигипергликемическим, иммуностропным и другими видами действия [8].

Цель исследования. Изучить влияние фитоэкдистерона на выраженность окислительного стресса при острой гипоксической гипобарической гипоксии средней степени тяжести.

Материалы и методы. В эксперименте использовали водную вытяжку из смолёвки поникшей (*silene nutans*) и смолёвки татарской (*silene tatarica*), содер-

жащую 0,1% фитоэкдистерона (ФЭ). Концентрацию вещества определяли спектрофотометрически при длине волны 242 нм [3]. Работа проведена на 35 нелинейных белых крысах – самцах массой 230–270 г. Содержание животных в виварии соответствовало «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник» от 06.04.1993 г. Исследования осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ и использование к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.).

Экспериментальные животные были разделены на 5 серий. Первая серия представлена интактными крысами. Вторая серия (контроль) – животными, которых подвергали воздействию острой гипоксической гипобарической гипоксии (ОГГГ). Третья серия – крысами, которым вводили ФЭ. Четвертая серия – животными, которых после профилактического введения ФЭ подвергали воздействию ОГГГ. Пятая серия – крысами, которым вводили милдронат «Grindex» (МД) в дозе 250 мг/кг в течение 7 дней, а затем подвергали воздействию ОГГГ.

ФЭ вводили животным ежедневно в течение 7 дней *per os* в дозе 5 мг/кг массы. ОГГГ моделировали путем подъема животных на высоту 8000 м со скоростью 50 м/с и экспозицией 30 мин.

В конце эксперимента животных забивали под легким эфирным наркозом, после чего забирали для исследования головной мозг, сердце и печень. Выраженность окислительного стресса оценивали по активности оксидантной и антиоксидантной систем организма. В гомогенатах органов об оксидантной

активности судили по содержанию малонового диальдегида (МДА). Антиоксидантную активность оценивали по уровню свободных и белковых (общих) сульфгидрильных (SH) групп, активности супероксид-дисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы, глутатион-SH-трансферазы, глутатионредуктазы.

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.1». Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – ошибка среднего арифметического значения. Различия между группами оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), тест Ньюмена-Кейсла [2].

Результаты и их обсуждение. Введение ФЭ в течение 7 дней интактным крысам (третья серия), по сравнению с животными первой серии, приводило в мозге к повышению активности глутатионпероксидазы на 8,3% ($p < 0,05$) (табл. 1), а в печени – к повышению активности каталазы на 28,6% ($p < 0,05$) и снижению содержания МДА на 28,6% ($p < 0,05$) (табл. 3).

Экспозиция животных на высоте 8000 м в течение 30 мин (вторая серия) сопровождалась различными по направленности и степени изменениями исследуемых показателей оксидантной и антиоксидантной систем в разных органах (головном мозге, миокарде, печени), по сравнению с показателями интактных крыс. Так, в мозге отмечалось достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня МДА на 28,1%, снижение содержания свободных и белковых SH-групп на 27,3 и на 38,5% соответственно, уменьшение активности СОД на 26,4%, глутатион-SH-трансферазы на 10,5%, глутатионредуктазы на 18,9%, глутатионпероксидазы на 23,1% и повышение активности каталазы на 29,0% (см. табл. 1). В миокарде обнаруживалось достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня МДА на 35,2%, снижение концентрации свободных и белковых SH-групп на 36,8 и 30,9% соответственно, уменьшение активности СОД на 24,1%, каталазы на 33,3%, глутатион-SH-трансферазы на 11,1%, глутатионредуктазы на 15,3%, глутатионпероксидазы на 19,2% (табл. 2). В печени наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня МДА на 36,7%, снижение содержания свободных и белковых SH-групп на 29,4 и на 44,3% соответственно, уменьшение активности СОД на 30,6%, каталазы на 35,7%, глутатион-SH-трансферазы на 8,9%, глутатионредуктазы на 17,6%, глутатионпероксидазы на 25,3% (см. табл. 3).

Профилактическое введение ФЭ в течение 7 дней перед ОГГГ (четвертая серия), по сравнению с животными контрольной серии, приводило в мозге к повышению ($p < 0,05$) содержания общих SH-групп на 62,5%, активности СОД на 31,5%, глутатион-SH-трансферазы на 18,3% и нормализации (отсутствие достоверных различий с интактными животными, $p > 0,05$) уровня МДА, свободных SH-групп и активности глутатионредуктазы (см. табл. 1). В миокарде наблюдалось повышение ($p < 0,05$) уровня свободных SH-групп на 41,7%, активности глутатионпероксидазы на 7,6% и нормализация уровня МДА, активности СОД, каталазы,

глутатион-SH-трансферазы, глутатионредуктазы (см. табл. 2). В печени происходило снижение уровня МДА на 20,4% ($p < 0,05$), увеличение содержания белковых SH-групп на 45,5% ($p < 0,05$), активности глутатион-SH-трансферазы на 6,8%, глутатионпероксидазы на 21,4%, каталазы на 66,7% и нормализация содержания свободных SH-групп и активности СОД (табл. 3).

В пятой серии эксперимента (введение милдроната (МД) в течение 7 дней) по сравнению с животными второй серии в мозге происходило повышение ($p < 0,05$) активности СОД на 33,2%, глутатион-SH-трансферазы на 24,6%, глутатионредуктазы на 26,2%, глутатионпероксидазы на 23,9% и нормализация уровня МДА, концентраций свободных и белковых SH-групп (см. табл. 1). В миокарде отмечалось снижение уровня МДА на 34,6%, повышение содержания свободных SH-групп на 25,0% ($p < 0,05$), активности глутатионпероксидазы на 20,2% и нормализация активности СОД, каталазы, глутатион-SH-трансферазы и глутатионредуктазы (табл. 2). В печени обнаруживалась нормализация уровня МДА, свободных SH-групп, СОД, глутатион-SH-трансферазы, глутатионредуктазы и глутатионпероксидазы (см. табл. 3).

Повышение уровня МДА и снижение концентрации свободных, белковых SH-групп, активности антиоксидантных ферментов во всех исследуемых органах (кроме активности каталазы в мозге, где ее активность повышалась) на фоне ОГГГ свидетельствует об активации процессов свободно-радикального окисления, ослаблении активности антиоксидантной защиты и развитии окислительного стресса [4, 5].

Профилактическое введение фитоэкадистерона в течение 7 дней перед ОГГГ предотвращало развитие окислительного стресса во всех исследуемых органах (мозге, миокарде и печени), причем за счет стимулирования разных звеньев антиоксидантной системы. Подобное действие ФЭ можно рассматривать как проявление его адаптогенной активности, то есть способности оптимизировать в разных органах наиболее важные для их жизнедеятельности компоненты антиоксидантной системы защиты [4, 7]. Экдистероидные рецепторы в организме млекопитающих до сих пор не обнаружены. Считается, что свои эффекты они оказывают за счет повышения активности протеинкиназы В или фосфолипазы С [9].

В отличие от этого, использование МД приводило к активации антиоксидантной системы лишь в мозге и миокарде, что связано с особенностями его механизма действия. Известно, что МД оптимизирует метаболизм миокарда и улучшает циркуляцию и метаболизм в головном мозге при ишемии [1].

Выводы

1. Ежедневное назначение интактным крысам фитоэкадистерона *per os* в дозе 5 мг/кг массы в течение 7 дней приводит в мозге к повышению активности глутатионпероксидазы, а в печени к повышению активности каталазы и уменьшению содержания МДА.

2. Профилактическое в течение 7 дней до гипобарической гипоксии пероральное введение фи-

Таблица 1

Влияние фитоэкдистерона и милдроната на состояние антиоксидантной системы мозга крыс, $M \pm m$

Показатель	Серия эксперимента				
	1 (интактные)	2 (контроль)	3 (ФЭ 7 дней)	4 (ФЭ 7 дней перед гипоксией)	5 (МД 7 дней перед гипоксией)
МДА, нмоль/мг ткани	13,32±1,05	17,06±1,1*	12,64±0,87	15,25±0,75	16,135±0,95
SH-группы свободные, мкмоль/ мг ткани	0,11±0,0078	0,08±0,0041*	0,1±0,0063	0,095±0,0056	0,094±0,0049
SH-группы общие, мкмоль/мг ткани	0,39±0,025	0,24±0,019*	0,44±0,039	0,39±0,03**	0,3±0,026
Активность СОД, МЕ/мг ткани	4,01±0,27	2,95±0,2*	3,76±0,31	3,88±0,29**	3,93±0,23**
Активность каталазы, МЕ/мг ткани	1,24±0,07	1,6±0,084*	1,26±0,058	1,68±0,094*	1,64±0,106*
Активность глутатион-SH-трансферазы, нмоль ХДНБ/мин×мг ткани	112,18±3,5	100,4±2,5*	115,83±3,8	118,8±3,9**	125,1±4,5**
Активность глутатионредуктазы, нмоль НАДФН/мин×мг ткани	24,86±1,11	20,16±0,95*	23,56±0,78	22,3±1,23	25,45±1,25**
Активность глутатионпероксидазы, нмоль НАДФН/мин×мг ткани	8,5±0,32	6,54±0,15*	9,2±0,21*	7,1±0,38*	8,1±0,41**

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактными крысами; ** – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таблица 2

Влияние фитоэкдистерона и милдроната на состояние антиоксидантной системы миокарда крыс, $M \pm m$

Показатель	Серия эксперимента				
	1 (интактные)	2 (контроль)	3 (ФЭ 7 дней)	4 (ФЭ 7 дней перед гипоксией)	5 (МД 7 дней перед гипоксией)
МДА, нмоль/мг ткани	2,5±0,15	3,38±0,25*	2,8±0,18	2,95±0,2	2,21±0,15**; ***
SH-группы свободные, мкмоль/ мг ткани	0,19±0,013	0,12±0,0084*	0,18±0,0094	0,17±0,01**	0,15±0,0089*; **
SH-группы общие, мкмоль/мг ткани	0,68±0,048	0,47±0,041*	0,65±0,053	0,51±0,032*	0,5±0,045*
Активность СОД, МЕ/мг ткани	3,36±0,15	2,55±0,12*	3,07±0,24	3,2±0,25	3,05±0,22
Активность каталазы, МЕ/мг ткани	5,4±0,32	3,6±0,2*	5,0±0,38	4,6±0,26	4,4±0,3
Активность глутатион-SH-трансферазы, нмоль ХДНБ/мин×мг ткани	53,3±1,9	47,36±1,2*	55,18±2,7	48,11±2,1	49,7±2,2
Активность глутатионредуктазы, нмоль НАДФН/мин×мг ткани	22,86±0,8	19,36±0,65*	21,03±0,9	20,91±1,2	21,47±1,15
Активность глутатионпероксидазы, нмоль НАДФН/мин×мг ткани	21,3±0,86	17,2±0,83*	20,5±1,07	18,5±0,87**	20,68±1,35**

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактными крысами; ** – $p < 0,05$ по сравнению с контролем; *** – $p < 0,05$ между изучаемыми показателями 4 и 5 серий.

тоэкдистерона в дозе 5 мг/кг массы тела приводит к снижению выраженности органных проявлений окислительного стресса.

3. По антиоксидантному влиянию на головной мозг и миокард фитоэкдистерон сопоставим с известным препаратом метаболического действия милдронатом, а по влиянию на печень даже его превосходит.

Влияние фитоекдистерона и милдроната на состояние антиоксидантной системы печени крыс, М×т

Показатель	Серия эксперимента				
	1 (интактные)	2 (контроль)	3 (ФЭ 7 дней)	4 (ФЭ 7 дней перед гипоксией)	5 (МД 7 дней перед гипоксией)
МДА, нмоль/мг ткани	2,83±0,18	3,87±0,29*	2,02±0,12*	3,08±0,21**	3,26±0,25
SH-группы свободные, мкмоль/ мг ткани	0,17±0,011	0,12±0,0077*	0,15±0,0092	0,14±0,0072	0,14±0,0097
SH-группы общие, мкмоль/мг ткани	0,79±0,045	0,44±0,033*	0,83±0,056	0,64±0,043**	0,59±0,038*
Активность СОД, МЕ/мг ткани	2,97±0,17	2,06±0,1*	2,79±0,14	2,56±0,097	2,43±0,17
Активность каталазы, МЕ/мг ткани	5,6±0,4	3,6±0,24*	7,2±0,5*	6,0±0,3**	4,0±0,28*,***
Активность глутатион-SH-трансферазы, нмоль ХДНБ/мин×мг ткани	140,69±2,6	128,13±2,3*	138,4±2,7	136,8±2,1**	133,36±2,9
Активность глутатионредуктазы, нмоль НАДФН/мин×мг ткани	52,26±1,96	43,08±1,5*	48,95±1,77	45,67±1,43*	47,67±1,65
Активность глутатионпероксидазы, нмоль НАДФН/мин×мг ткани	22,5±1,35	16,8±0,75*	21,92±1,15	20,39±0,85**	18,87±1,1

Примечание: * – p<0,05 по сравнению с интактными крысами; ** – p<0,05 по сравнению с контролем; *** – p<0,05 между изучаемыми показателями 4 и 5 серий.

Литература

1. Видаль специалист. Справочник «Кардиология». – М.: Астра-ФармСервис, 2008. – 886 с.
2. Гланц, С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
3. Дармограй, В.Н. Фармакогностическое изучение некоторых видов семейства гвоздичных и перспективы использования их в медицинской практике: дис. в виде науч. доклада д-ра фарм. наук / В.Н. Дармограй. – Рязань, 1996. – 91 с.
4. Зарубина, И.В. Молекулярная фармакология антигипоксантов / И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов – СПб.: ООО «Издательство Н-Л», 2004. – 368 с.
5. Новиков, В.Е. Фармакология и биохимия гипоксии / В.Е. Новиков, Н.П. Катунина // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2002. – Т. 1. – № 2. – С. 73–87.
6. Сыров, В.Н. Фитоекдистероиды: биологические эффекты в организме высших животных и перспективы использования в медицине / В.Н. Сыров // Экспер. и клин. фармакол. – 1994. – № 5. – С. 61–66.
7. Яременко, К.В. Оптимальное состояние организма и адаптогены / К.В. Яременко. – СПб.: Изд-во «ЭЛБИ-СПб», 2007. – 130 с.
8. Lafont, R. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update / R. Lafont, L. Dinan // J. insect. sci. – 2003. – Vol. 3. – Is. 7. – P. 30.
9. Raskin, I. Phytoecdysteroids – Understanding their anabolic activity. Abstract of the dissertation PhD. – New Brunswick, New Jersey, 2009. – P. 151.

A.V. Shchulkin, V.V. Davydov, E.N. Yakusheva

Study of phytoecdysterone influence on oxidative stress during hypoxia on rats

Abstract. In the research on the nonlinear white rats an influence of phytoecdysterone, extracted from *Silene nutans* and *Silene tatarica*, on expression of oxidative stress was studied at an acute hypoxemic hypobaric hypoxia. Hypoxia was simulated by an exposition of the animals at the height of 8000 m with rate of lifting and descent of 50 km/s and the exposition within 30 minutes. It was established that daily appointment to intact rats phytoecdysterone per os in a dose of 5 mg/kg within 7 days leads to increase activity of glutathioneperoxidase in the brain, and to increase the activity of catalase and to reduce the content of malone dialdehyde in liver. It was shown that introduction of phytoecdysterone per os in a mass dose 5 mg/kg within 7 days before hypoxia leads to depression of expression of oxidative stress in different organs. By the antioxidant effect on the brain and myocardium phytoecdysterone it was comparable to the known preparation of metabolic action mildronate and on the influence on the liver even surpassed it.

Key words: phytoecdysterone, hypoxia, lipid peroxidation, oxidative stress, mildronate, brain, myocardium, liver.

Контактный телефон: 8-920-9520024; e-mail: alekseystshulkin@rambler.ru