

© Рябков А.Н., 2014
УДК 615.322.015:616.155.1-001.8

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ИЗ БИОМАССЫ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ ЖЕНЬШЕНЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

А.Н. Рябков

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

В настоящей работе проведено экспериментальное исследование особенностей динамики комплекса биохимических параметров эритроцитов лабораторных животных с моделируемой острой гипоксической гипоксией после курсового назначения препарата из биомассы культуры ткани женьшеня. Эксперименты выполнены на крысах, острая гипоксическая гипоксия у которых моделировалась в барокамере. Статистический анализ изменений биохимических параметров эритроцитов свидетельствует о достаточно выраженном антигипоксическом эффекте препарата из биомассы культуры ткани женьшеня.

Ключевые слова: женьшень, культура ткани, гипоксия.

Актуальность и значимость поиска оптимальных по соотношению эффективности и безопасности антигипоксантов предопределена чрезвычайно широким распространением гипоксии – состояния, возникающего как в условиях дефицита кислорода во внешней среде, так и в результате различных патологий, связанных с нарушением функций дыхательной, сердечно-сосудистой систем, а также транспортной функции крови [1, 4, 5, 6, 11]. Цель настоящей работы – комплексная биохимическая оценка антигипоксического эффекта препарата из биомассы культуры ткани женьшеня.

Материалы и методы

Исследования выполнены на взрослых нелинейных крысах-самцах массой 160-230 г. Использован вариант острой гипоксической гипоксии, вызываемой шестичасовой экспозицией подопытных животных в вентилируемой барокамере с остаточным давлением соответствующим подъему на высоту 8000 м. Он характеризуется большим диапазоном изменений количественных значений биохимических показателей крови и параметров

свободно-радикального окисления тканей, что позволяет провести достаточно корректную оценку наличия и выраженности антигипоксического действия у исследуемого средства [3, 8, 12, 15, 16, 17].

На предварительном этапе из биомассы культуры ткани женьшеня готовили настойку методом перколяции на 40% этаноле. Далее её деалкоголизировали упариванием на роторном испарителе до каломельного состояния, затем в колбу добавляли дистиллированную воду до восстановления исходного объема. Полученный деалкоголизированный препарат из биомассы культуры ткани женьшеня вводили животным внутрь через желудочный зонд в дозе 5 мл/кг (в пересчете на исходную настойку) в течение 7 дней перед помещением в барокамеру.

Сразу же после извлечения животных из барокамеры их наркотизировали эфиром и проводили взятие крови, в эритроцитах которой определяли комплекс биохимических показателей, характеризующих состояние липопероксидации и гликолиза, а также активности их мембранного транспорта, т.е. процессов,

во многом определяющих степень воздействия гипоксической гипоксии на данные клетки в частности и организм в целом. Интенсивность перекисного окисления липидов определялась по содержанию в эритроцитах малонового диальдегида (МДА) [14], а состояние их антиоксидантной защиты – по уровню сульфгидрильных групп (SH-групп) [13] и показателю перекисного гемолиза эритроцитов (ПГЭ – степени их гемолиза в специальном буферном растворе) [2]. Маркером, отражающим состояние мембранного транспорта, служила активность натрий-калий-магний-зависимой аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы) [10]. Интенсивность ранних стадий гликолиза – основного энергопродуцирующего метаболического процесса эритроцитов, во многом определяющего их структурную целостность и функциональную стабильность – оценивали по концентрации 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) [7], поздних – по активности пируваткиназы (ПК) [9]. Все первичные опытные данные были подвергнуты математико-статистической обработке с расчетом средних значений, их ошибок, критерия Стьюдента, вероятности ошибочного прогноза.

Результаты и их обсуждение

Шестичасовое пребывание крыс в барокамере на «высоте 8000 м» сопровождалось статистически подтвержденным изменением всех параметров перекисного окисления липидов (табл. 1, рис. 1). Так, ПГЭ достиг значения 16,37 + 1,52 %, что почти вдвое больше, чем в контрольной группе. Концентрация МДА увеличилась до 235%. Уровень сульфгидрильных групп снизился на 49%. Достоверно возросли оба показателя интенсивности гликолиза: активность ПК – до 152%, концентрация 2,3-ДФГ – до 135%. Эти сдвиги, вероятнее всего, свидетельствуют о компенсаторном усилении гликолиза как защитной реакции на воздействие гипоксии. Резко увеличилась и активность АТФ-азы (175%), что, по видимому, отражает происходящие в условиях дефицита кислорода метаболические нарушения, в частности, внутриклеточного баланса электролитов, кото-

рые и индуцируют усиление процессов активного мембранного транспорта.

Изменения параметров перекисидации и антиоксидантной защиты в препаратной серии характеризуются следующими особенностями. У крыс, получавших до помещения в барокамеру превентивный курс препарата из биомассы культуры ткани женьшеня, все показатели, хотя достоверно и отличались от контрольных величин (концентрация МДА – 137%; уровень SH-групп – 79%; ПГЭ – 145%), но были уже гораздо ближе к ним по абсолютным значениям, что предопределило и их достоверное отличие от соответствующих величин серии «гипоксия».

Семидневное введение оцениваемого препарата существенно повлияло и на вторую группу анализируемых параметров эритроцитов. Активность ПК продолжала возрастать по сравнению с серией «гипоксия» (171% от контроля). Также в еще большей степени, чем у крыс с «чистой» гипоксией, увеличилось и содержание в эритроцитах 2,3-ДФГ (149%). Итак, исследуемый препарат способствовал дальнейшей интенсификации гликолиза, как ранних, так и завершающих его стадий. Вполне вероятно, что выявленный метаболический сдвиг является одним из решающих в механизме антигипоксического действия вводимого препарата на эритроцитарном уровне. Кроме того, значительное возрастание содержания 2,3-ДФГ предопределяет снижение сродства гемоглобина к кислороду, что, в свою очередь, способствует сохранению необходимого уровня оксигенации тканей. Косвенным подтверждением данных предположений может рассматриваться и тот факт, что у животных, получавших препарат из биомассы культуры ткани женьшеня, активность АТФ-азы оказалась гораздо более низкой, чем у крыс серии «гипоксия», хотя осталась достоверно превышающей (на 19%) контрольный параметр. Это свидетельствует о функциональной стабильности клеточных мембран эритроцитов крыс данной серии даже в условиях воздействия гипоксических факторов.

Таблица 1

Влияние препарата из биомассы культуры ткани женьшеня (ЖШ) на ферментные и метаболические показатели эритроцитов крыс при моделировании острой гипоксической гипоксии

серии показатели	Контроль	Гипоксия	ЖШ + гипоксия
<i>Пируваткиназа</i> (мкмоль /г Нв*мин) <i>M ± m</i> <i>T_к</i> <i>P_к</i>	6,77 ± 0,43 - -	10,28 ± 0,22 7,26 < 0,001	11,58 ± 0,29 11,7 < 0,001
<i>АТФ-аза</i> (мкмоль/г Нв*час) <i>M ± m</i> <i>T_к</i> <i>P_к</i>	30,43 ± 2,09 - -	53,31 ± 3,67 5,42 < 0,001	36,22 ± 1,45 2,98 < 0,05
<i>2,3-ДФГ</i> (мкмоль/г Нв) <i>M ± m</i> <i>T_к</i> <i>P_к</i>	20,73 ± 0,64 - -	28,00 ± 0,85 6,83 < 0,001	30,89 ± 1,52 6,14 < 0,001
<i>МДА</i> (нмоль/мл) <i>M ± m</i> <i>T_к</i> <i>P_к</i>	11,82 ± 1,24 - -	27,74 ± 0,83 10,71 < 0,001	16,23 ± 0,75 3,06 < 0,01
<i>SH-группы</i> (мкмоль/г Нв) <i>M ± m</i> <i>T_к</i> <i>P_к</i>	13,67 ± 1,18 - -	6,99 ± 0,55 5,13 < 0,001	10,83 ± 0,46 2,24 < 0,05
<i>ПГЭ</i> (%) <i>M ± m</i> <i>T_к</i> <i>P_к</i>	8,29 ± 0,60 - -	16,37 ± 1,52 4,95 < 0,001	12,04 ± 0,65 4,24 < 0,01

Примечание. АТФ-аза – натрий-калий-магний-зависимая аденозинтрифосфатаза; 2,3-ДФГ – дифосфоглицерат; МДА – малоновый диальдегид; SH-группы – сульфгидрильные группы; ПГЭ – перекисный гемолиз эритроцитов. «*T_к*, *P_к*» – значения коэффициента Стьюдента и вероятности ошибочного прогноза при сравнении с соответствующими показателями серии «контроль».

Особенности отмеченных изменений активности ПК и содержания 2,3-ДФГ могут рассматриваться как реальная составляющая механизма антигипоксического эффекта препарата из биомассы культуры ткани женьшеня.

Немаловажное значение имеет и антипероксидное действие препарата из биомассы культуры ткани женьшеня, проявившееся меньшими изменениями

уровней МДА и параметров антиоксидантной защиты по сравнению с серией «гипоксия». Оно ограничивает степень деструкции мембранных структур эритроцитов, происходящую за счет активации свободно-радикального окисления при гипоксии и способствует максимальной эффективности участия этих клеток крови в повышении устойчивости организма к дефициту кислорода.

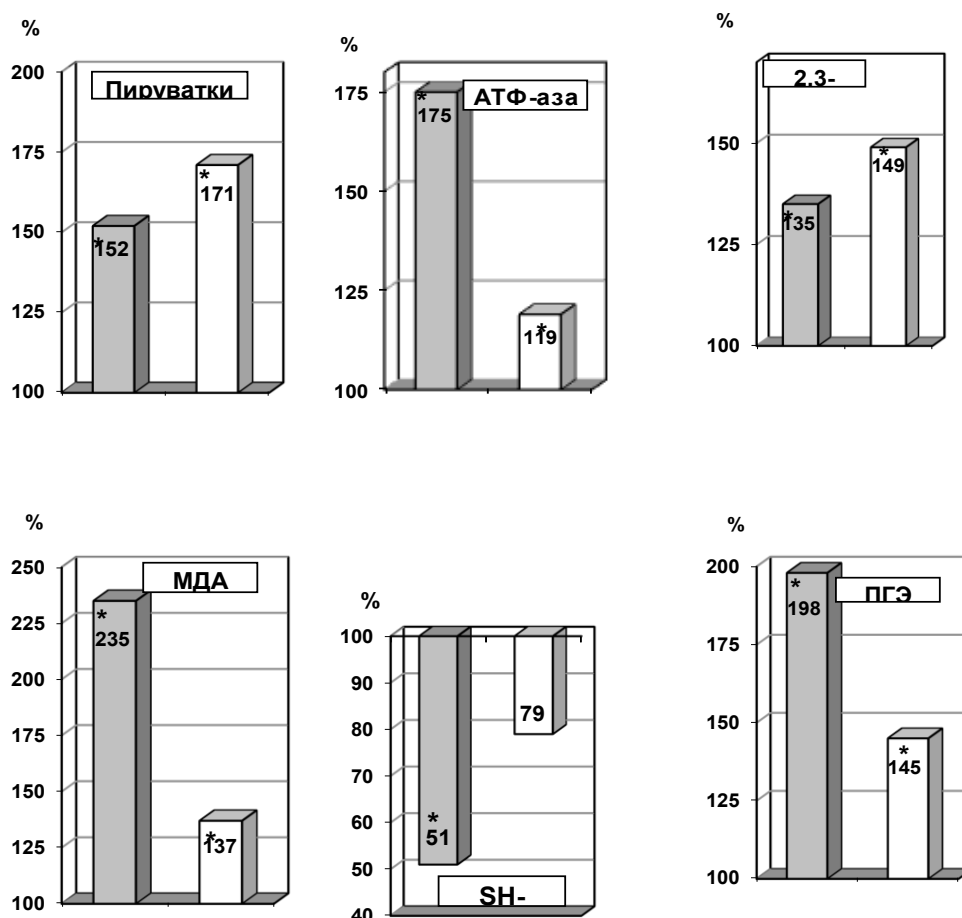


Рис. 1. Изменения (в %) ферментных и метаболических показателей эритроцитов крыс при моделировании острой гипоксической гипоксии и превентивном назначении препарата из биомассы культуры ткани женьшеня по сравнению с контролем (100%-й уровень)

- гипоксия
- гипоксия + препарат из биомассы культуры ткани женьшеня
- * - достоверность изменений по сравнению с контролем ($P < 0,05$)

Выводы

Препарат из биомассы культуры ткани женьшеня при воздействии факторов, приводящих к развитию острой гипоксии, оказал четкое антигипоксическое действие, проявившееся меньшей степе-

нью биохимических изменений в эритроцитах.

Установленные проявления и возможные механизмы антигипоксического действия препарата из биомассы культуры ткани женьшеня характеризуются

достаточной выраженностью, обеспечивающей высокую устойчивость организма в условиях остро развившейся кислородной недостаточности. Данная характеристика безусловно важна и может способствовать расширению диапазона практического использования оцениваемого препарата. В частности, в качестве вспомогательного профилактического средства при угрозе гипоксического повреждения тканей при ишемической болезни сердца, бронхиальной астме и других патологиях, а также в гериатрической практике, где значение длительного применения максимально безопасных антигипоксантов особенно велико.

Литература

1. Агаджанян Н.А.. Физиологические особенности сочетанного влияния на организм острой гипоксии и гиперкапнии / Н.А. Агаджанян, В.Г. Двоеносов, // Вестник восстановительной медицины. – 2008. – №1. – С. 4-8.
2. Артемьева Г.Б. Влияние пармидина на некоторые показатели перекисного окисления липидов в эксперименте и клинике: автореф. дис. канд. мед. наук / Г.Б.Артемьева. – Рязань, 1990. – 22 с.
3. Ахметова М. И. Коррекция изменений сурфактантной системы легких при гипоксической гипоксии в эксперименте : автореферат дис. ... кандидата медицинских наук / М.И. Ахметова. – Бишкек, 2010. – 25 с.
4. Воскресенский О.Н. Биоантиоксиданты - облигатные факторы питания / О.Н. Воскресенский, В.И. Бобырев // Вопр. мед. химии. – 1992. – №4. – С. 21-24.
5. Зеленская И.Л. Влияние извлечений из *Inula Helenium L.* на течение острой гипоксической гипоксии у мышей / И.Л. Зеленская, Т.Н. Поветьева, В.Г. Пашинский // Растит. ресурсы. – 2000. – Т. 36, вып. 4. – С. 73-78.
6. Егоров И.В. Современные подходы к лечению ИБС в гериатрической практике / И.В. Егоров // Поликлиника. – 2011. – №2. – С.40-42.
7. Исаков С.А. Биохимические и иммунологические реакции адаптации у больных хроническими дерматозами: автореф. дис. д-ра мед. наук / С.А. Исаков. – Рязань, 2002. – 46 с.
8. Киселева В.А. Биохимическая характеристика действия некоторых пищевых добавок, содержащих маточное молочко и другие биологически активные продукты пчеловодства: автореф. дис. канд. мед. наук / В.А. Киселева. – Рязань, 1998. – 22 с.
9. Кожевникова К.А. Изоферменты пируваткиназы из мозгового и коркового слоя почки кролика / К.А. Кожевникова // Биохимия. – 1973. – № 4. – С. 670-675.
10. Лишко В.К. Изучение взаимодействия Na^+ , K^+ - зависимой АТФазы мембран и теней эритроцитов с оубаином / В.К. Лишко, М.К. Малышева, Т.И. Чреварзирская // Биохимия. – 1974. – Т. 39, №1. – С. 60-65.
11. Лукьянова Л.Д. Современные подходы к поиску антигипоксантов / Л.Д. Лукьянова // Актуальные проблемы фармакологии и поиск новых лекарственных препаратов: тез. докл. – Томск, 1999. – С. 59-67.
12. Маньковская И.Н. Особенности реализации механизмов перекисного окисления липидов при прерывистой гипоксической тренировке / И.Н. Маньковская // *Hypoxia Medical J.* – 1993. – №4. – С. 9-12.
13. Пасашниченко В.А. Итоги науки и техники / В.А. Пасашниченко // ВИНТИ. Сер. Биологическая химия. – М., 1987. – Т. 25. – С. 6.
14. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
15. Фармакологическая коррекция метаболической адаптации к гипоксии / В.Г. Макарова, Б.К. Романов, А.Н. Рябков, К.В. Савилов // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. – 1994. – №1-2. – С. 13.
16. Lyarkov V.G. Biochemical Aspect of Hypoxia / V.G. Lyarkov // *Hypoxia Medical J.* – 2004. – №1. – P. 3-10.

17. Takahashi H. The Leakage of Fatty Acid Binding Protein from Cultured Myocardial Cells during Hypoxia / H. Takahashi // *Cardiovasc. Drugs Ther.* – 2006. – №5-6. – P. 1021-1026.

**INFLUENCE OF PREPARATION FROM THE BIOMASS OF GINSENG
ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF ERYTHROCYTES AT EXPERIMENTAL HYPOXIA**

A.N. Ryabkov

In the work the experimental research of features of dynamics of a complex biochemical parameters of erythrocytes on laboratory animals with a modelled acute hypoxic hypoxia after application of preparation from biomass of ginseng is conducted. Experiments were carried out on rats with acute hypoxic hypoxia which was modelled in a pressure chamber. The statistical analysis of changes of biochemical parameters testifies about rather expressed antihypoxic effect of a preparation from biomass of ginseng.

Keywords: ginseng, cellular culture, hypoxia.

Рябков Александр Николаевич – д-р мед. наук, доц., кафедра фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФДПО ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.
Тел.: 8 (4912) 46-08-59.