

© Рябков А.Н., Слепнев А.А., 2013

УДК 615.322.015:616.13-004.6

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИАТЕРОГЕННЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТОВ ИЗ БИОМАССЫ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ЖЕНЬШЕНЯ И ПОЛИСЦИАСА ПАПОРОТНИКОЛИСТНОГО

*А.Н. Рябков, А.А. Слепнев*

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

В данной работе проведена оценка сравнительной выраженности антиатеросклеротического эффекта препаратов из биомассы культуры ткани женьшеня и полисциаса папоротниколистного. Эксперименты выполнены на кроликах, содержащихся в течение месяца на строго безантиоксидантном пищевом рационе в состоянии жесткой иммобилизационной гиподинамии. Анализ комплекса биохимических параметров липидного спектра сыворотки крови и интенсивности перекисного окисления в ткани аорты при профилактическом и лечебном вариантах применения сравниваемых средств свидетельствует о достаточно выраженных антиатерогенных свойствах препаратов из биомассы растений семейства аралиевых, особенно полисциаса папоротниколистного.

**Ключевые слова:** женьшень, полисциас папоротниколистный, клеточная культура, атеросклероз.

С учетом литературных данных, убедительно свидетельствующих о важной роли в этиологии и патогенезе атеросклероза интенсификации свободно-радикального окисления [1, 2, 5, 7, 8], с одной стороны, и достаточно выраженной антиоксидантной активностью фитоадаптогенов семейства аралиевых [4; 6], с другой, в настоящей работе для проведения сравнительного изучения антиатеросклеротических свойств препаратов из биомассы культуры ткани женьшеня (б.к.т. ЖШ) и полисциаса папоротниколистного (б.к.т. ПП) была использована перекисная модель атеросклероза [3].

### Материалы и методы

Опыты проведены на 50 взрослых кроликах-самцах массой 2,0-3,5 кг. Экспериментальная патология воспроизводилась путем содержания подопытных животных на безантиоксидантном рационе, включающем жир с низким уровнем токоферола. Каждый кролик, в полном со-

ответствии с авторской методикой [67], ежедневно получал стограммовый брикет, в состав которого включалось: окисленный маргарин – 10 г; казеин – 10 г; крахмал – 37,5 г; сахар – 5 г; овес (прошедший последовательную обработку этанолом и гексаном для удаления липидных антиоксидантов) – 15 г; измельченная солома – 5 г; дрожжи сухие – 10 г; витамин А – 2000 ЕД; витамин Д – 200 ЕД; ацетат калия – 2,1 г; ацетат магния – 0,42 г; солевая смесь ( $\text{CaCO}_3$  – 1,262 г;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,758 г;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – 0,614 г;  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  – 1,148 г;  $\text{NaCl}$  – 0,741 г;  $\text{MgSO}_4$  – 0,278 г;  $\text{FeSO}_4$  – 0,021 г;  $\text{MnSO}_4$  – 0,035 г;  $\text{KI}$  – 0,003 г;  $\text{ZnCO}_3$  – 0,002 г;  $\text{CuSO}_4$  – 0,002 г). Данное кормление проводили в течение 30 дней. В отличие от авторской схемы, характеризующейся большей длительностью применения безантиоксидантного рациона, в настоящих экспериментах был выбран менее продолжительный вариант, так как имеются литературные данные о развитии достаточно выраженного атеросклероза у

данного вида лабораторных животных уже к 25-30 дню воздействия атерогенной диеты [15]. Кроме того, помимо антиоксидантоустойчивой диеты был использован еще один фактор, усиливающий и ускоряющий развитие атеросклероза – гиподинамия: животные весь опытный период находились в индивидуальных вольерах в состоянии практически полной иммобилизации, так как размеры вольеров с передвигающимися стенками были подобраны в максимальном соответствии с длиной туловища кролика.

Сравниваемые препараты из б.к.т. ЖШ и б.к.т. ПП вводились внутрь через желудочный зонд в дозе 0,5 мл/кг (в пересчете на исходную настойку).

Эксперименты проведены в двух модификациях: при профилактическом и лечебном вариантах применения препаратов из биомассы фитоадаптогенов. В первом случае в опыты было включено четыре серии кроликов (по 6 в каждой): 1) животные, находившиеся в течение 30 дней на безантиоксидантном рационе в условиях жесткой гиподинамии, которым ежедневно на этом фоне вводили препарат из б.к.т. ПП (условное обозначение этой серии в тексте – «ПП + атеросклероз»); 2) кролики, получавшие в аналогичных условиях препарат из б.к.т. ЖШ («ЖШ + атеросклероз»); 3) кролики, которым в качестве манипуляционного контроля в условиях воздействия атерогенных факторов вводили внутрь физиологический раствор натрия хлорида в дозе 0,5 мл/кг («атеросклероз»); 4) интактные животные, т.е. кролики, содержащиеся в нестесненных вольерах, получающие обычный корм и физиологический раствор внутрь («контроль»).

В экспериментах, соответствующих оценке лечебного варианта назначения сравниваемых биоадаптогенов, животные первоначально помещались на тридцать дней в гиподинамические вольеры на безантиоксидантный пищевой рацион, после чего их переводили на обычную диету и на 14-й день последствия атерогенных факторов определяли остаточные параметры экспериментальной патологии (ус-

ловное обозначение серии – «атеросклероз»). Препараты из б.к.т. ЖШ и б.к.т. ПП вводили в течение этих четырнадцати дней последствия животным в стандартной дозе 0,5 мл/кг («атеросклероз + ЖШ», «атеросклероз + ПП»).

В качестве биохимических критериев оценки моделируемой патологии и ее модификации при профилактическом и лечебном вариантах применения сравниваемых препаратов использовали показатели липидного спектра сыворотки крови, определяемые с помощью стандартных наборов на биохимических анализаторах КФК-2ПМ и ФП-901М: концентрации общих липидов (ОЛ), триглицеридов (ТГЦ), общего холестерина (ОХ),  $\beta$ -липопротеидов ( $\beta$ -ЛП),  $\alpha$ -липопротеидов ( $\alpha$ -ЛП) и значения индекса атерогенности, рассчитываемого по формуле:  $(ОХ - \alpha\text{-ЛП}) / \alpha\text{-ЛП}$ , а также параметры, характеризующие интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в 12,5%-ом гомогенате ткани аорты: концентрация малонового диальдегида (МДА), активность НАДФ-Н-зависимого и аскорбат-зависимого ПОЛ (НАДФ-Н-ПОЛ и АСК-ПОЛ). Взятие биосубстратов (крови, аорты) проводили через сутки после последнего введения препаратов после наркотизации животных тиопенталом-натрия.

#### **Результаты и их обсуждение**

**Профилактический вариант.** Все регистрируемые биохимические параметры у животных контрольной группы полностью соответствовали видовой норме. На 30-й день вскармливания кроликов атерогенным кормом в условиях жесткой гиподинамии были определены достаточно выраженные и высокодостоверные изменения параметров липидного спектра сыворотки крови по сравнению с соответствующими значениями интактных животных контрольной группы. Так, уровень ОЛ увеличился до 242%, ТГЦ – до 239%, ОХ – до 238%,  $\beta$ -ЛП – до 163%. При этом, несмотря на достоверно возросшую концентрацию  $\alpha$ -ЛП до 141%, более высокая степень увеличения содержания ОХ обусловила статистически значимый рост индекса атероген-

ности (до 235% от контроля).

Подтверждением начавшегося атерогенеза сосудов можно расценивать результаты показателей, отражающих интенсификацию ПОЛ в гомогенате ткани аорты. Концентрация МДА через 30 дней воздействия атерогенных факторов в серии «атеросклероз» увеличилась на 189%, активность НАДФ-Н- ПОЛ – на 150%, АСК-ПОЛ – на 170%.

Профилактическое ежедневное на- значение на фоне воздействия факторов атерогенеза препаратов из б.к.т. ЖШ и б.к.т. ПП оказало существенное влияние на значения определяемых параметров по сравнению с таковыми у животных серии «атеросклероз». Так, уровни ОЛ хотя и были достоверно возросшими по сравнению с контролем (на 39 и 44% соответственно), но степень этого превышения оказалась статистически меньшей, чем у незащищенных адаптогенами животных. Близкий характер изменений, т.е. умеренно выраженное увеличение, в препаратных сериях выявлен и по содержанию ОХ. Показатели концентраций ТГЦ и  $\beta$ -ЛП достоверно не отличались от соответствующих величин контрольных кроликов.

Достаточно важным представляется факт статистически более значимого увеличения по сравнению с серией «атеросклероз» уровня  $\alpha$ -ЛП до 187% от контроля при назначении препарата из б.к.т. ЖШ и до 200% – при назначении препарата из б.к.т. ПП. Особое значение этого результата связано с тем, что он может отражать один из возможных механизмов реализации протекторного эффекта исследуемых фитоадаптогенов к воздействию факторов атерогенеза. Непосредственным следствием изменения содержания  $\alpha$ -ЛП явились значения индекса атерогенности, разница в величинах которого в препаратных сериях по сравнению с серией «атеросклероз» оказалась максимальной – в 3,3 раза меньше при введении препарата из б.к.т. ЖШ и в 4,2 раза – при введении препарата б.к.т. ПП. По данному показателю уже не было выявлено достоверных различий по сравнению с кон-

трольной группой.

Вполне закономерно, что представленные умеренные изменения показателей липидного спектра на фоне сравниваемых препаратов сопровождались и меньшей по выраженности интенсификацией ПОЛ в гомогенате аорты. Это проявилось статистически подтвержденным относительно небольшим по сравнению с серией «атеросклероз» увеличением концентрации МДА (204% от контроля – «ЖШ + атеросклероз» и 193% – «ПП + атеросклероз»), активности НАДФ-Н-ПОЛ (194% и 163%) и АСК-ПОЛ (195% и 184% соответственно). При этом следует отметить, что все значения параметров липопероксидации в препаратных сериях были достоверно выше, чем соответствующие величины в контрольной группе, т.е. столь значимого протекторного действия, как по параметрам липидного спектра сыворотки крови, в стенке аорты не выявлено.

Оценка лечебного варианта применения препаратов из б.к.т. ЖШ и ПП. Через две недели после прекращения воздействия на подопытных животных факторов атерогенеза и перевода кроликов на обычный пищевой рацион вивария и просторные по площади клетки в серии «атеросклероз» была отмечена четкая тенденция к спонтанной нормализации большинства регистрируемых параметров липидного спектра сыворотки крови: уровень ОЛ, ТГЦ,  $\beta$ -ЛП и  $\alpha$ -ЛП уже статистически не отличался от соответствующих величин интактных животных. Однако концентрация ОХ осталась на 32% достоверно выше контрольного уровня. Это предопределило и негативную динамику индекса атерогенности, значение которого на 63% превышало контрольное значение.

Меньшая степень спонтанной нормализации в серии «атеросклероз» была отмечена к концу эксперимента для параметров ПОЛ. Все они остались достоверно увеличенными по сравнению с контролем: МДА – на 114%, НАДФ-Н- ПОЛ – на 58%, АСК-ПОЛ – на 60%. Как видно, несмотря на тенденцию спонтанно происходящего восстановления значений опреде-

ляемых биохимических показателей, на 14-й день последствия факторов атерогенеза сохранился ряд маркеров проявления экспериментального атеросклероза.

Вполне естественно, что в препаратных сериях содержание ОЛ, ТГЦ,  $\beta$ -ЛП также не отличались от соответствующих значений кроликов интактной группы. На контрольном уровне оказалась и величина содержания  $\alpha$ -ЛП при введении препарата из б.к.т. ЖШ. А при назначении препарата из б.к.т. ПП их концентрация осталась достоверно большей, чем в контроле (на 36%), что отразилось на статистически подтвержденном различии ее от соответствующего показателя в серии «атеросклероз + ЖШ» (на 31%). Это предопределило еще один важный результат анализа сравнительной эффективности применяемых препаратов: индекс атерогенности в «полисциасовой» серии был также достоверно более низким, не только по сравнению с серией «атеросклероз» (на 53%), но и по сравнению с серией «атеросклероз + ЖШ» (на 40%).

Выявленные особенности изменений значений  $\alpha$ -ЛП и индекса атерогенности можно расценивать как первые принципиальные различия в проявлениях антиатеросклеротического действия препаратов из б.к.т. ЖШ и б.к.т. ПП. Вполне вероятно, что несколько более выраженная степень нормализующего влияния препарата из б.к.т. ПП на показатели липидного спектра отразилась различиями в динамике показателей ПОЛ в стенке аорты при данных экспериментальных условиях. При общей направленности на их снижение к контрольному уровню (по сравнению с серией «атеросклероз») эффект применения препарата из б.к.т. ПП проявился в большей степени, судя по абсолютным количественным значениям регистрируемых параметров, чем препарата из биомассы женьшеня. Это отмечено как для показателей содержания МДА (135% от контроля – «ЖШ + атеросклероз» и 128% – «ПП + атеросклероз»), активности АСК-ПОЛ (147% и 119%), так и, особенно, по интенсивности НАДФ-Н-зависимого ПОЛ (132% и 95% соответственно), для значений которой разница в

степени влияния между препаратами была статистически подтвержденной.

Как следует из представленных данных, у животных, получавших препарат из б.к.т. ЖШ, определяемые показатели липопероксидации, хотя и уменьшились, но сохранили достоверность превышения соответствующих величин интактных животных. При этом только уровень МДА достоверно снизился по сравнению с серией «атеросклероз». У кроликов, которым вводили препарат из б.к.т. ПП, все три параметра уже не имели статистических отличий от контроля и, с другой стороны, достоверно отличались от значений животных серии «атеросклероз». Следовательно антиоксидантный эффект, во многом предопределяющий антиатеросклеротическое действие, оказался в условиях данного варианта проведения экспериментов более выраженным при назначении подопытным животным препарата из б.к.т. ПП.

#### Выводы

Профилактическое назначение препаратов из биомассы культуры ткани женьшеня и полисциаса папоротниколистного на фоне 30-дневного воздействия факторов, способствующих развитию атеросклероза, сопровождалось умеренным снижением по сравнению с серией «атеросклероз» значений показателей интенсивности ПОЛ в стенке аорты и достаточно выраженным защитным эффектом в отношении показателей липидного спектра сыворотки крови. Степень данных проявлений антиатеросклеротического действия у сравниваемых препаратов, вводимых в профилактическом режиме, оказалась практически одинаковой.

Через две недели после прекращения воздействия атерогенных факторов, в течение которых препараты из биомассы сравниваемых фитоадаптогенов назначались как лечебные средства, терапевтическая эффективность препарата из биомассы культуры ткани полисциаса папоротниколистного, оцениваемая как по значениям динамики показателей липидного спектра, так и параметров интенсивности перекисного окисления липидов в гомогенате стенки аорты, характеризовалась

большой выраженностью.

#### Литература

1. Анкин В.З. Перекиси липидов и атеросклероз. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови больных ИБС / В.З. Анкин, А.Н. Закирова Л.В. Касаткина // Кардиология. – 1979. – № 10. – С. 69-72.
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. Воскресенский О.Н. Изменения в артериальной стенке кроликов при длительном кормлении их нативным и окисленным жиром / О.Н. Воскресенский, В.В. Вит // Архив патологии. – 1971. – Т. 51, № 6. – С. 51-55.
4. Давыдов В.В. Эффективность препаратов женьшеня при инсулинозависимом диабете и токсическом гепатите в эксперименте / В.В. Давыдов, Д.С. Молоковский, А.Ю. Лимаренко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1990. – № 5. – С. 49-53.
5. Ланкин В.З. Перекисное окисление липидов в этиологии и патогенезе атеросклероза / В.З. Ланкин, А.М. Вихерт // Архив патологии. – 2009. – Т. 51, № 1. – С. 133-136.
6. Трилис Я.Г. Новые сведения о механизмах адаптогенного действия препаратов культуры тканей *Panax ginseng* C. F. Mey. и *Polyscias filicifolia* Bailey (Araliaceae) / Я.Г. Трилис, В.В. Давыдов // Растительные ресурсы. – 1995. – Т. 31, вып. 3. – С. 19-36.
7. Goto J. Lipid Peroxides in Biologie and Medicine / J. Goto. – New York, 1982. – 303 p.
8. Tsai A.C. Effect of cholesterol feeding on tissue lipid peroxidation, glutathione peroxidase activity and liver microsomal functions in rats pigs / A.C. Tsai, G.M. Thie, C.R. Law // J. Nutr. – 1987. – Vol. 107, № 2. – P. 310-319.

### STUDYING OF ANTIATHEROGENEOUS PROPERTIES OF PREPARATIONS FROM THE BIOMASS OF GINSENG AND POLISCIAS FILICIFOLIA BAILEY CELLULAR CULTURE

A.N. Ryabkov, A.A. Slepnev

**This article is devoted to an assessment of degree of expressiveness of antiatherogenic properties of preparations from the biomass of ginseng and polyscias filicifolia bailey cellular culture. The experiments were performed on rabbits, kept for a month on the strictly antioksidantless diet and on the hypodynamy immobilization condition. An analysis of the biochemical parameters of serum lipid spectrum and intensity of lipid peroxidation in the tissue of the aorta in preventive and therapeutic uses of comparable compounds indicates a rather pronounced antiatherogenic properties of drugs of Araliaceae plant biomass, especially polyscias filicifolia.**

**Key words:** *ginseng, polyscias filicifolia, cellular culture, atherosclerosis.*

Рябков Александр Николаевич – д-р мед. наук, доцент кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФПДО ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.  
E-mail: ryabkov.an@tfoms-rzn.ru.

Слепнев Александр Александрович – к.б.н., доцент кафедры фармакологии с курсом фармации и фармакотерапии ФПДО ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.