

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАДИСПЕРСНОГО ПОРОШКА КОБАЛЬТА НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДОВ POLYGONUM AVICULARE (ГОРЦА ПТИЧЬЕГО)

Г.И. Чурилов, Ю.Н. Ивановичева, С.Д. Полищук

Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова,
Рязанская сельскохозяйственная академия имени профессора П.А. Костычева

В статье представлены результаты испытаний фармакологической активности полисахаридного комплекса, выделенного из травы горца птичьего, семена которого перед посадкой были обработаны ультрадисперсным порошком кобальта (УДП Со).

Ключевые слова: порошок кобальта, биологическая активность, полисахариды

В настоящее время большой интерес представляют биопрепараты нового поколения – ультрадисперсные порошки металлов (УДПМ), активными компонентами которых являются железо, кобальт, медь, молибден и другие вещества в ультрадисперсном состоянии. Один из способов получения УДПМ запатентован (RU 205 8223 С1). Полученные таким образом ультрадисперсные порошковые вещества резко отличаются по своему строению от макрочастиц и приобретают новые физико-химические свойства [3]. Отличительной особенностью УДПМ является их способность активизировать физиологические и биохимические процессы и малая токсичность по сравнению с солями металлов. Однако, отсутствуют данные о влиянии УДПМ на биохимические и физиологические показатели животных при введении в их рацион биополимеров природного происхождения, выделенных из растений, семена которых перед посадкой были обработаны УДПМ. Методика обработки изложена в [5]. Обработка семян горца птичьего проводилась в дозе УДП-Со 0,03 г на гектарную норму.

Изучался полисахаридный комплекс, выделенный из травы горца птичьего, который представляет собой смесь полисахаридных фракций: (I) номер Государственной регистрации - 6412486 и (II) номер Государственной регистрации – 6412585. Аналогичные испытания были проведены и для водорастворимого полисахарида, выделенного из горца птичьего, семена которого перед посадкой были обработаны ультрадисперсным порошком кобальта (УДП Со).

Материалы и методы

Для изучения функционального состояния свертывающей и фибринолитической систем крови определяли время свертывания цельной крови, время рекальцинации, протромбиновое [тромбопластиновое] время, уровень фибриногена, тромботест, тромбиновое и гепариновое время общепринятыми лабораторно-клиническими методами [1]. Наряду с этим, был использован коагулографический метод. При анализе коагулограммы учитывались следующие

показатели: время начала свертывания (T_n), время окончания свертывания (T_k), продолжительность процесса свертывания (T), начало ретракции и фибринолиза ($T_{рф}$), максимальная амплитуда (MA), характеризующая показатель гематокрита.

Опыты проводились на 20 крысах, полисахаридный комплекс вводили из расчета 0,5 г/кг массы внутрь в течение 14 дней. Определение указанных показателей проводили на 3, 7, 14-е сутки введения полисахаридов и на 3, 5-е сутки последствия (17-е и 19-е сутки опыта).

Все исследования сопровождались соответствующими контрольными опытами на интактных животных. Результаты экспериментов обработаны методом вариационной статистики [2].

Измерение массы тела проводили методом взвешивания перед кормлением на 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 сутки введения препарата и 6 сутки после отмены.

Для опыта были сформированы 3 группы животных по 10 особей, которые включали особей обоего пола, разного возраста. Животные содержались в стандартных условиях вивария, при этом была исключена возможность общения с другими животными во избежание возможности заражения какими-либо инфекционными заболеваниями.

1 группа получала обычные корма и полисахаридный препарат горца птичьего в количестве 0,5 г/кг массы тела.

2 группа - получала обычные корма и полисахаридный препарат, выделенный из горца птичьего, семена которого перед посадкой были обработаны ультрадисперсным порошком кобальта.

Контрольная группа – получала обычные корма.

При этом исследовались следующие показатели: изменение массы тела, изменение основных показателей крови.

Для определения изменений основных показателей крови при введении полисахаридного препарата растительного происхождения его вводили внутрь через рот один раз в день из расчета 0,5 г/кг массы тела животного в течение 25 дней. Исследования проводили на 5-и, 10-е, 15-е, 20-е, 25-е сутки введения полисахаридного препарата и на 7-е сутки после отмены введения препарата (на 32-е сутки опыта).

Количественное определение лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина проводилось общепринятыми лабораторно-клиническими методами. Кровь для анализа брали из хвостовой вены. Все результаты обрабатывались методом вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение.

При лабораторно – клиническом анализе плазмы крови крыс, получавших в течение 14 дней полисахаридный комплекс горца птичьего, выявлено изменение свертывающей системы крови в сторону гиперкоагуляции, на что указывает статистически достоверное укорочение времени рекальцификации и протромбинового времени, а также повышение содержания фибриногена на 3,7 и 14-е сутки эксперимента [4].

Аналогичные опыты были проведены и для полисахаридного комплекса горца птичьего, семена которого были перед посадкой обработаны УДП кобальта. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние водорастворимых полисахаридов горца птичьего, семена которого обработаны УДП Со на свертываемость крови и фибринолиз I, (ввод полисахаридного препарата в количестве 0,5г/кг массы тела)

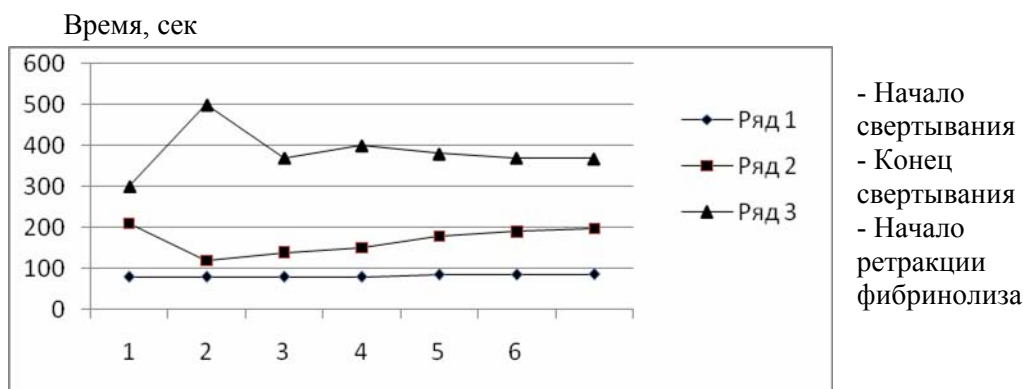
Срок (сут.)	Начало свертывания Тн(сек.)	Конец свертывания Тк (сек.)	Продолжительность свертывания Т (сек.)	Начало ретракции и фибринолиза Трф (сек)	Максимальная амплитуда АМ
До введения препарата водорастворимого полисахарида					
	67,8 ± 3,2	203,0±16,5	135,2 ±20,0	305 ±35,3	4,3 ±0,1
Введение препарата водорастворимого полисахарида					
3	54,6 ±2,1	115,8 ±6,8	61,2 ±4,7	483,4 ±67,8	4,4 ±0,2
7	55,7 ±3,1	132,6 ±8,1	76,9 ±5,0	356,3 ±54,5	4,4 ±0,1
14	61,5 ±6,3	165,7 ±38,5	104,2±32,2	409,3 ±43,2	3,6 ±0,2
После отмены введения препарата					
3	65,4 ±3,1	195,8 ±14,4	130,4 ± 11,4	370,3±37,7	4,0 ±0,1
5	70,1 ±5,2	207,7 ±36,8	137,6±31,6	347,6 ±42,5	3,9 ±0,07

Из данных таблицы видно, что введение полисахаридного препарата, увеличивает свертываемость крови крыс на 3-й сутки до 61,2 ± 4,7 сек, против 135,2 ± 20 секунд до опыта, при этом свертывание крови начиналось через 54,6 ± 2,1 секунд против 67,8 ± 3,2 секунд до опыта. Одновременно начало ретракции и фибринолиза увеличивается с 305±35,3 секунд до опыта до 483,4 ± 67,5 секунд на 3-й сутки опыта.

Используя средние значения таблицы 1, можно построить график, отражающий зависимость некоторых показателей системы свертывания крови при введении полисахаридного препарата.

Рисунок 1.

Изменение основных показателей системы свертывания крови при введении полисахаридного препарата



1 - до опыта; 2-3 день; 3-7 день; 4-14 день; 5-3 день после отмены; 6-5 день после отмены.

На 7-е и 14-е сутки увеличение показателей свертывания крови сохраняется, однако прослеживается тенденция к уменьшению данных показателей, так на 7-е сутки введения полисахаридного препарата продолжительность свертывания крови составляет $76,9 \pm 5$ секунд, что на $15,7 \pm 0,7$ секунд меньше, чем на 3-й сутки опыта. К тому же время ретракции и фибринолиза уменьшается до $356,3 \pm 54,5$ секунд. Показатели тромботеста, тромбинового и гепаринового времени в среднем находились в пределах нормы во все сроки наблюдения. После отмены введения указанного полисахаридного комплекса каких-либо изменений состояния свертывающей и антисвертывающей систем крови обнаружено не было.

Таким образом, введение растительного полисахарида, выделенного из горца птичьего после обработки семян перед посадкой УДП Со, животным приводит, как и без обработки [4], к активации системы свертывания крови и не влияет на показатели антисвертывания.

При статической обработке коагулограмм показана достоверность различия показателей Тн, Тк, Т во все сроки введения полисахарида.

Учитывая отсутствие специфического гепариноподобного комплекса, можно предположить, что данный полисахарид, влияя на активность комплемента и кининовую систему оказывает опосредованное действие на свертывающую и фибринолитическую активность крови с отчетливой склонностью к гиперкоагуляции.

Каких-либо изменений состояния свертывающей и антисвертывающей систем крови обнаружено не было.

В плане общей характеристики полисахаридного комплекса, выделенного из горца птичьего семени которого перед посадкой были обработаны УДП Со, изучены его токсичность в "острых" и хронических опытах на мышах и крысах с регистрацией общепринятых показателей состояния организма животных, а также возможные аллергизирующие свойства растительного полисахарида.

При изучении острой токсичности определить $D > 50$ оказалось невозможным из-за чрезвычайно низкой токсичности полисахарида. Введение его в максимально возможной дозе [1000 мг/кг] в сутки внутрь или внутрибрюшинно, определяемой растворимостью и допустимым объемом введения, не вызывало изменений общего

состояния животных и состава периферической крови.

Патоморфологическое исследование не выявило у животных необратимых изменений внутренних органов (печень, почки, надпочечники, селезенка, сердце). По данным биохимических исследований полисахаридный комплекс не вызывает существенных и статистически достоверных изменений содержания билирубина и его фракций, а также общего белка и холестерина в сыворотке крови, что позволяет исключить возможность токсического действия на клетки печени. Изменение активности аминотрансфераз (АлАТ и АсАТ) носило временный характер, что также указывает на отсутствие развития поражения паренхимы печени.

Таким образом, при длительном курсе введения полисахаридный комплекс, выделенный из травы горца птичьего после обработки УДП Со, как и без обработки [4], оказывает специфический фармакологический эффект (кровоостанавливающее действие), не проявляет токсических свойств.

При изучении алергизирующее действие полисахаридного препарата выявлено полное отсутствие алергизирующих свойств указанного полисахаридных препаратов, не вызывая у сенсибилизированных животных лихорадочной реакции и эозинофилии.

Данные по изменению массы тела сведены в таблицу 2.

Таблица 2.

Изменение массы тела под действием полисахаридных препаратов (г)

ГРУППЫ	До опыта	4 день	8 день	12 день	16 день	20 день	24 день	28 день	6 день После отмены
Контроль	170±5	172±6	174±6	176±5	178±6	180±7	182± 7	184± 6	186±5
1	170±5	176±5	181±4	188±5	192*±7	199*±5	203*±6	208*±6	196±5
2	170±5	175±5	180±4	188±6	193*±7	200*±5	204*±6	207*±6	197±5

*P≤0,05

Из данных таблицы видно, что животные принимавшие препараты водорастворимых полисахаридов наращивают массу тела быстрее, чем контрольные животные. Увеличение массы тела достигает максимума на 28-е сутки введения препаратов. Отмена введения препаратов приводит к уменьшению массы тела на 6-е сутки эксперимента, дальнейшее уменьшение массы прекращается и наблюдается её увеличение параллельно контролю.

Таким образом, введение препаратов водорастворимых полисахаридов увеличивает массу тела по сравнению с контролем максимально на 17,51% (горец птичий), 16,95% (горец птичий семена которого перед посадкой были обработаны ультрадисперсным порошком кобальта).

Анализ основных показателей крови (количество гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов) проводили на крысах 2-ой экспериментальной группы (принимавшей полисахариды, выделенные из горца птичьего, семена которого перед посадкой были обработаны ультрадисперсным порошком кобальта). Обработка полученных данных показала, что лейкоцитарная формула не изменяется при введении полисахаридного препарата. Полученные данные приведены в таблице 3.

Таблица 3.

Морфологические показатели крови крыс при введении полисахаридного препарата, выделенного из травы горец птичий, семена которого были

Показатели крови**	5 сутки	10 сутки	15 сутки	20 сутки	25 сутки	7 сутки после отмены
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,40±0,23*	6,48±0,15	6,30±0,12	6,12±0,11	5,26±0,20	6,48±0,21
Лейкоциты $10^9/л$	12,0±0,3	9,59±0,30	9,24±0,21	8,4±0,40	7,93±0,23	10,5±0,3
Гемоглобин, г/л	115,4±2,0	119,2±2,2	113,6±1,9	111,2±2,0	92,25±2,0	108±2,1

обработаны УДП Со.

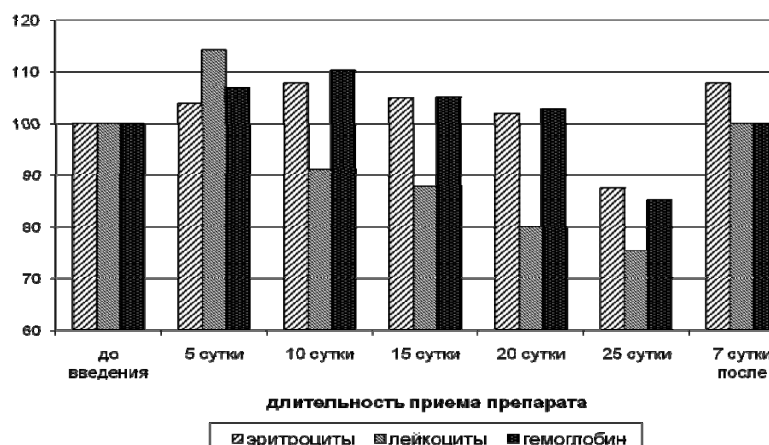
* $P \leq 0,05$

**до введения препарата: эритроциты, $10^{12}/л$ -6,22±0,14; лейкоциты, $10^9/л$ -10,51±0,23; гемоглобин, г/л-110,4±4,7.

Из данных таблицы видно, что количество эритроцитов увеличивается максимально на 10-е сутки введения препарата, затем уменьшается вплоть до 25-х суток, а затем снова увеличивается после отмены препарата до максимального значения. Параллельно происходит изменение количества гемоглобина крови: уменьшение до 85,4% на 25-е сутки введения препарата, и восстанавливается на 7-е сутки после отмены введения препарата до первоначального показателя. Количество лейкоцитов увеличивается к 5 суткам эксперимента, а затем постепенно уменьшается и к 25-ым суткам составляет 75,5% от контроля и восстанавливается при отмене введения препарата. По полученным данным построена диаграмма (рис.2).

Рисунок 2.

Изменение основных показателей крови под действием полисахаридного препарата, выделенного из горца птичьего, семена которого были обработаны УДП Со, в % от контроля.



Выводы

Таким образом, препараты водорастворимых полисахаридов, выделенных из надземных частей горца птичьего, обладают ярко выраженной биологической активностью, активизируют систему свертывания крови у здоровых животных, способствуют нарастанию массы и могут рекомендоваться в качестве лекарственных препаратов; при этом они не обладают токсичностью и аллергенностью.

Обработка семян горца птичьего УДП Со не влияет на активность полисахаридного комплекса, хотя количество водорастворимых полисахаридов при такой обработке возрастает на 20 -30%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балуда В.П. Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / В.П. Балуда, З.С. Баркаган, Е.Д. Гольдберг. - Томск. 1980. С. 314.
2. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Л.: Медицина, 1968. – 132с.
3. Павлов Г.В. Биологическая активность ультрадисперсных порошков: Монография./ Г.В.Павлов, Г.Э. Фолманис / Под общ. ред. академика, вице-президента РАСХН Эрнста Л.К. и академика МАЭН Артюшина А.М.-М.: Исследовательский центр проблем качества подготовки специалистов, 1999.- 78 с.
4. Чекулаева Г.Ю. Выделение и химико-биологическое исследование полисахарида из лекарственного растительного сырья / Г.Ю. Чекулаева, Г.И. Чурилов // Рос. мед.- биол. Вестник. – 2002. - № 3-4. С. 95-100.
5. Яковлев А.И. Полисахаридный состав *Polygonum aviculare* / А.И. Яковлев, Г.И. Чурилов, А.И. Гинак // Хим. природ. соединений. – 1985.- №5.- С.619-622.

THE INFLUENCE OF AN ULTRADISPERSE POWDER OF COBALT ON BIOLOGICAL ACTIVITY OF POLYSACCHARIDES OF THE POLYGONUM AVICULARE

G.I. Churilov, Yu.N. Ivanycheva, S.D. Polyshyk.

The article presents the results of pharmaceutical activity of polysaccharide complex investigation, got out of the *Polygonum aviculare*, the seeds of which were influenced by ultradisperse powder of cobalt before planting.