

Н.С.Шаповаленко, В.А.Доровских, Н.В.Коршунова, М.А.Штарберг, С.С.Сластин, Е.Е.Невмывако

ВЛИЯНИЕ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ ТКАНЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

ГОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздрава России, Благовещенск

РЕЗЮМЕ

Проведено исследование показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у экспериментальных животных при длительном холодовом стрессе на фоне введения реамберина и элеутерококка. Установлено, что у экспериментальных животных, которым предварительно вводили реамберин, в условиях холодового стресса наблюдается снижение интенсивности перекисного окисления липидов и активация антиоксидантной защиты тканей. Антиокислительные свойства реамберина по их воздействию на процессы перекисного окисления липидов сравнимы с антиокислительными свойствами классического адаптогена элеутерококка.

Ключевые слова: холод, стресс, адаптация, антиоксиданты.

SUMMARY

N.S.Shapovalenko, V.A.Dorovskikh, N.V.Korshunova, M.A.Shtarberg, S.S.Slastin, E.E.Nevmyvako

INFLUENCE OF COLD STRESS ON LIPID PEROXIDATION INTENSITY AND TISSUE ANTIOXIDATIVE SYSTEM IN EXPERIMENTAL ANIMALS

The investigation of indices of lipid peroxidation and antioxidant system in rats at long cold stress against the introduction of reamberin and eleuthero-coccus was carried out. It is established that the decrease of lipid peroxidation intensity and activation of antioxidant defense of tissues are observed in experimental animals which were introduced with reamberin beforehand at cold stress. Antioxidant properties of reamberin in terms of their influence on lipid peroxidation can be compared with antioxidant properties of eleuthero-coccus as classic adaptogen.

Key words: cold, stress, adaptation, antioxidants.

В условиях Дальневосточного региона одним из важнейших стрессовых факторов, действующих на организм человека и животных, является холод [7]. Изменение температурных условий существования живого организма требует увеличения мощности функционирования приспособительных реакций к факторам окружающей среды [5, 6, 14]. Повышение резистентности организма к неблагоприятным условиям окружающей среды приводит к состоянию, пограничному между нормой и патологией – адаптации [3]. При адаптации к холодовому стрессу в организме человека и животных происходит изменение многих метаболических процессов [2, 8, 9]. Зачастую трудно

определить, когда наступает адаптационная стадия стресса, сопровождающаяся повышением резистентности организма. Одним из таких показателей может служить состояние биологических мембран, которым принадлежит важная роль в процессах жизнедеятельности клетки [2, 8, 10]. По мнению ряда авторов, холодовое воздействие вызывает усиленную регенерацию активных метаболитов кислорода и активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), что приводит к нарушению структуры клеточных мембран, снижению функциональной активности клеток и их гибели [2, 3, 6, 13].

Для профилактики и коррекции холодового стресса, используют адаптогены различных групп, обладающие широким спектром действий и способные предотвратить активацию ПОЛ, повысить резистентность организма к холодовому воздействию [4, 7, 10]. Известно, что наиболее перспективными средствами для облегчения адаптации к холоду теплокровного организма являются адаптогены растительного происхождения. Среди последних широкое применение получил экстракт элеутерококка, который известен целым рядом положительных эффектов. Доказана его антиоксидантная и антигипоксанта способность и практически полное отсутствие побочных и токсических эффектов [4]. Несмотря на разнообразие представителей данной группы, в практической медицине появляются новые, синтезированные химическим путем препараты, представляющие особый интерес для исследований с целью выявления антистрессирующих свойств в различных модельных системах. В данном случае наш интерес вызвал препарат реамберин, основной фармакологический эффект которого обусловлен наличием янтарной кислоты в его составе, являющейся продуктом пятой и субстратом шестой реакции цикла Кребса. Этот промежуточный метаболит выступает регулятором функций живых систем, обладает мощной энергопродукцией, антигипоксическим, кардиопротекторным, дезинтоксикационным действием, демонстрирует нетипично высокий терапевтический эффект при наличии патологического процесса, способен усиливать процессы аэробного гликолиза и снижать степень окислительных процессов в цикле Кребса [1, 11, 12].

Цель исследования: изучить интенсивность процессов ПОЛ и состояние антиоксидантной системы (АОС) у экспериментальных животных при воздействии холода; дать оценку степени влияния реамберина и элеутерококка на процессы ПОЛ и состояние АОС в условиях холодового стресса в тканях организма крыс.

Материалы и методы исследования

На основании заключения Комитета по биомедицинской этике Амурской государственной медицинской академии представленная работа носит экспериментальный характер и соответствует этическим принципам и нормативным требованиям проведения доклинического исследования. Для изучения действия реамберина в условиях холодового стресса была применена холодовая модель эксперимента, в которой участвовало 4 группы животных [7]. В опытах было использовано 212 беспородных, половозрелых белых крыс-самцов массой 200 г. Исследование проводилось одновременно во всех экспериментальных группах в течение 28 дней, декапитация животных производилась на 7, 14, 21 и 28 день эксперимента. В 1 группу (n=10) вошли интактные крысы, которые находились в обычных условиях вивария; 2 группу (контрольную) составили животные (n=10), подвергавшиеся ежедневному охлаждению в климатоканере «Fentron» (Германия) по 3 часа при температуре -15°C; 3 группа (n=10) включала крыс, которым перед охлаждением внутрибрюшинно вводили реамберин – дезинтоксикационный полиионный раствор для инфузий производства ООО НТФФ «ПОЛИСАН» (Россия) в дозе 30 мг/кг; в 4 группу (n=10) были включены животные, ко-

торые перед охлаждением получали пероральный водный раствор экстракта элеутерококка производства ОАО «Дальхимфарм» (Россия) в дозе 10 дг/кг.

Основным методом исследования служила биохимическая оценка содержания продуктов ПОЛ и показателей АОС в крови и ткани сердца экспериментальных животных. Об интенсивности ПОЛ судили по количеству диеновых конъюгатов (ДК), гидроперекисей липидов (ГП), малонового диальдегида (МДА), активность АОС определяли по содержанию каталазы (КТ), церулоплазмина (ЦП) и токоферола (ТФ). Статистическую обработку результатов проводили с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и по критерию Стьюдента (t), использовали программный комплекс «Microsoft Excel». Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате исследования установлено, что в контрольной группе животных, подвергавшихся воздействию низких температур, наблюдается достоверное увеличение содержания показателей ПОЛ во все дни эксперимента, о чём свидетельствует возрастание концентрации ДК, ГП и МДА в крови и сердце экспериментальных животных (табл. 1).

Таблица 1

Содержание ДК, ГП и МДА в крови и ткани сердца крыс при длительном холодовом стрессе и применении реамберина и элеутерококка

Группы животных	ДК		ГП		МДА	
	Кровь (нмоль/мл)	Сердце (нмоль/г)	Кровь (нмоль/мл)	Сердце (нмоль/г)	Кровь (нмоль/мл)	Сердце (нмоль/г)
Интактные крысы	49,1±7,2	46,8±0,7	26,6±1,1	62,8±1,6	5,1±0,2	2,0±0,1
7 день эксперимента						
Воздействие холодом	77,6±5,6 ²	67,5±1,1 ³	35,5±1,9 ²	82,9±0,5 ³	6,6±1,1 ³	2,7±0,2 ²
Реамберин и холод	45,1±6,1***	52,3±1,2***	30,5±1,7*	69,7±2,1***	5,0±0,3***	2,3±0,1
Элеутерококк и холод	47,4±5,1***	54,2±0,7***	32,1±1,2*	63,6±2,3***	5,4±0,3**	2,3±0,1
14 день эксперимента						
Воздействие холодом	71,5±4,3 ²	69,2±3,2 ³	33,2±1,7 ²	84,0±2,5 ²	6,4±0,3 ²	2,8±0,1 ²
Реамберин и холод	37,2±2,2***	52,7±1,3***	27,5±0,8**	70,0±1,3***	5,1±0,2**	2,2±0,1***
Элеутерококк и холод	46,9±3,7***	56,3±2,1***	29,5±1,7*	70,6±2,3***	5,6±0,2*	2,1±0,1***
21 день эксперимента						
Воздействие холодом	75,1±5,2 ²	66,8±2,7 ³	32,4±1,9 ²	86,3±3,6 ³	6,5±0,2 ³	2,5±0,1 ²
Реамберин и холод	48,0±4,6**	52,7±1,1***	26,5±0,4**	72,7±2,1**	5,3±0,2***	2,2±0,1***
Элеутерококк и холод	39,5±8,6***	52,4±1,0***	26,9±0,7**	64,1±3,2***	5,3±0,3**	2,1±0,1***
28 день эксперимента						
Воздействие холодом	73,6±6,0 ²	70,9±3,2 ³	35,2±2,1 ²	85,3±3,0 ³	6,7±0,2 ³	2,7±0,2 ²
Реамберин и холод	39,2±5,6***	55,7±0,8***	24,2±1,4***	67,2±1,6***	5,2±0,3***	2,3±0,1***
Элеутерококк и холод	51,9±6,2*	56,1±2,6**	26,6±2,4**	67,8±0,1***	5,4±0,5*	2,3±0,1***

Примечание: здесь и далее ¹ – $p < 0,05$, ² – $p < 0,01$, ³ – $p < 0,001$ – уровень значимости различий показателей по сравнению с группой интактных животных; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – уровень значимости различий показателей по сравнению с контрольной группой (воздействие холодом).

Результаты исследований показывают, что при длительном охлаждении активация ПОЛ совпала с формированием стадий адаптационного процесса, что подтверждают литературные данные [9]. Преимущественное накопление продуктов перекисидации отмечалось через 7-14 дней от начала холодового воздействия, что соответствует стадии «тревоги» [7]. На 14-21 день начинается стадия резистентности, когда отмечается менее выраженная активация ПОЛ, а к 28 дню эксперимента вновь отмечается активация ПОЛ, что соответствует началу развития стадии дезадаптации. Данная стадия характеризуется нарушением структур и функций биологических мембран, а также развивается при чрезмерном напряжении адаптационных реакций организма [5]. При введении реамберина на фоне холодового воздействия отмечается выраженное стабильное уменьшение содержания продуктов ПОЛ в крови и сердце крыс, особенно на 14 и 21 день эксперимента, тем самым препарат способствовал ускоренному развитию стадии адаптации, а по некоторым показателям превосходил эффект, оказываемый при применении элеутерококка. Последний заметно снижал продукты перекисидации на 21 и 28 день экспе-

римента.

Доказано, что активация ПОЛ при холодовом стрессе развивается на фоне напряжения и истощения АОС в крови экспериментальных животных, что по сравнению с интактной группой крыс проявляется снижением на 21% активности КТ, на 33% – ЦП, а также уменьшением на 27% содержания ТФ и на 12% – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. При введении реамберина, на 21 день эксперимента отмечается увеличение на 31% активности КТ, на 76% – ЦП, а к 28 дню эксперимента отмечается увеличение концентрации глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на 13%. При этом элеутерококк оказывал на содержание продуктов АОС нестабильный эффект, что подтверждают данные эксперимента в сравнении с группой животных, получавших реамберин.

Другая группа ферментов антиокислительной системы представлена ТФ – естественным антиоксидантом в крови и ткани сердца. Результаты исследования показали, что холодовое воздействие уменьшает содержание ТФ, т.е. понижает антиокислительную способность липидов во всех исследуемых группах животных (табл. 2).

Таблица 2

Содержание ТФ в сыворотке крови и ткани сердца крыс при длительном холодовом стрессе и применении реамберина и элеутерококка

Группы животных	ТФ	
	Кровь (нмоль/мл)	Сердце (нмоль/г)
Интактные крысы	26,0±1,8	60,6±0,5
7 день эксперимента		
Воздействие холодом	20,0±0,8 ²	42,1±2,2 ³
Реамберин и холод	27,1±1,8**	45,5±1,4*
Элеутерококк и холод	27,8±1,7**	43,5±1,7*
14 день эксперимента		
Воздействие холодом	21,1±1,1 ¹	40,1±2,1 ³
Реамберин и холод	26,9±1,5**	46,2±1,2*
Элеутерококк и холод	25,7±1,6*	44,8±0,4*
21 день эксперимента		
Воздействие холодом	20,1±1,2 ²	41,0±1,9 ³
Реамберин и холод	27,8±2,1**	49,4±0,9**
Элеутерококк и холод	23,8±1,5*	56,1±0,6***
28 день эксперимента		
Воздействие холодом	19,1±0,8 ²	38,2±2,1 ³
Реамберин и холод	25,1±1,2***	49,3±1,9***
Элеутерококк и холод	26,1±2,2**	56,7±5,4**

Изучаемые препараты в различной степени влияли на содержание ТФ, но при этом во всех случаях имелось достоверное повышение средних значений концентрации указанного антиоксиданта в крови и ткани сердца крыс в сравнении с контрольной группой. На 21 и 28 день охлаждения показатели содержания ТФ у

крыс значительно приблизились к значениям в группе интактных животных как при введении реамберина, так и при назначении элеутерококка.

Таким образом, приведённые выше данные позволяют судить о наличии антистрессорного действия реамберина в условиях холодового воздействия на ор-

ганизм экспериментальных животных, что выражается в снижении активности продуктов перекисидации и увеличении содержания активных компонентов антиокислительной системы крови и тканей организма.

Выводы

1. При воздействии холода на организм экспериментальных животных происходит индукция процессов ПОЛ на фоне напряжения и истощения компонентов АОС в крови и ткани сердца.

2. При коррекции реамберином установлено статистически значимое различие изменений большинства показателей продуктов ПОЛ и компонентов АОС.

3. В условиях холодовой модели эксперимента реамберин проявляет выраженные антиокислительные свойства, что проявляется в снижении концентрации продуктов ПОЛ в крови и ткани сердца, а так же увеличением содержания компонентов АОС (каталазы, церулоплазмينا, токоферола).

4. Антиокислительные свойства реамберина по их воздействию на процессы ПОЛ сравнимы с антиокислительными свойствами классического адаптогена элеутерококка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев В.В. Клиническая фармакология реамберина (очерк): пособие для врачей. Спб., 2005. 44 с.

2. Бородин Е.А. Медицинские аспекты клеточных мембран. Благовещенск, 1989. 148 с.

3. Клеточные мембраны при эссенциальной гипертонии в условиях Крайнего Севера: корректирующий эффект антиокисидантов / Гапон Л.И. [и др.] // Актуальные проблемы кардиологии в Сибири и на Крайнем Севере: тез. докл. регион. науч.-практ. конф. Тюмень, 1994. С.9.

4. Дардымов И.В. Адаптогены – лекарства от стресса // Химия и жизнь. 1976. №3. С.67–72.

5. Дорошенко Г.К. Перекисное окисление липидов и антиокислительная система тканей при длительном действии холода на организм: дис. ... канд. биол. наук. Благовещенск, 1994. 89 с.

6. Доровских В.А., Бородин Е.А., Штарберг М.А. Фосфолипиды как антиатеросклеротические лекарственные средства // Липопротеиды. Благовещенск, 1995. С.33

7. Адаптогены и холодовой стресс: вчера, сегодня, завтра / Доровских В.А. [и др.]. Благовещенск: Даль-ГАУ, 2006. 214 с.

8. Казначеев В.П. Современные аспекты адаптации. Новосибирск: Наука, 1980. 192 с.

9. Кожевников Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии // Вопр. мед. химии. 1985. Т.31. Вып.5. С.2–7.

10. Косолапов В.А., Островский О.В., Спасов А.А. Антиокисдантная защита и перекисное окисление липидов в тканях крыс после гипобарической оксигенации // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1998. №11. С.519–521.

11. Оболенский С.В. Реамберин – новое средство для инфузионной терапии в практике медицины критических состояний: методические рекомендации. Спб., 2003. 23 с.

12. Яковлев А.Ю. Реамберин в практике инфузионной терапии критических состояний: практические рекомендации. СПб., 2008. 32 с.

13. Halliwell B., Chirico S. Lipid peroxidation: ist mechanism, measurement, and significance // Am. J. Clin. Nutr. 1993. Vol.57. P.715–725.

14. Stress and the Aging Brain, Integrative Mechanisms / Naper G. [et al.]. New York: Raven Press, 1990.

Поступила 28.01.2011

*Наталья Сергеевна Шаповаленко, аспирант,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького 95;
Natalia S. Shapovalenko,
95 Gorkogo Str., Blagoveschensk, 675000;
E-mail: agma@amur.ru*

