

Е.Е.Невмывако, В.А.Доровских, Н.В.Коршунова, Н.С.Шаповаленко

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АДАПТОГЕННЫХ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОГО И РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ ХОЛОДОВОМ И ТЕПЛОВИМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ*ГОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздрава России, Благовещенск***РЕЗЮМЕ**

Проведена токсиколого-гигиеническая оценка смеси из продуктов переработки пантов и дигидрокверцетина для повышения резистентности организма к условиям низких и высоких температур. Установлено, что данная биологически активная смесь обладает мощными антиоксидантными, гепатопротекторными свойствами, имеет высокую актопротекторную активность при патогенетическом воздействии температурного фактора окружающей среды. Указанная смесь облегчает адаптационные возможности организма к влиянию низких и высоких температур.

Ключевые слова: тепловое воздействие, холодное воздействие, продукты производства пантов, антиоксидантное действие, дигидрокверцетин.

SUMMARY

Е.Е.Nevmyvako, V.A.Dorovskikh, N.V.Korshunova, N.S.Shapovalenko

TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC ASSESSMENT OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF ADAPTOGENIC PRODUCTS OF ZOOLOGIC AND VEGETATIVE ORIGIN UNDER CONDITIONS OF HEAT AND COLD INFLUENCE ON ORGANISM

Toxicological and hygienic assessment of the mixture of processing products of pants and dihydroquercetin for the rise of organism resistance to low and high temperatures was done. It was established that this biologically active mixture has powerful antioxidant and hepatoprotective properties and has a high actoprotective activity at pathogenetic influence of environmental temperature. This mixture improves adaptive capabilities of the organism to the influence of high and low temperatures.

Key words: heat influence, cold influence, products of pants conversion, dihydroquercetin, antioxidant influence.

Приспособление организма человека и животных к температурным влияниям окружающей среды является одной из значимых проблем в науке и практике. Известно, что ускорить адаптацию человека к температурным факторам воздействия на организм возможно с помощью фармакологических средств (витамин Е, производные пиримидина, гутимины и тиобарбитуровой кислоты, пантокрин, экстракт женьшеня, левзеи, элеутерококка колючего), обладающих антиоксидантными и антигипоксантами свойствами [13, 14]. Однако эти препараты дорогие и порой дефи-

цитны, зачастую являются синтетическими химическими веществами, не лишены побочного действия и несут экологическую нагрузку на организм, что затрудняет их широкое использование.

Одним из новых направлений в регуляции метаболических процессов при воздействии низких или высоких температур является научно обоснованное применение в питании человека различных веществ с использованием продуктов животного и растительного происхождения. Последние можно рассматривать в качестве важнейших факторов, способствующих повышению неспецифической резистентности организма, что в условиях функциональных отклонений является определяющим.

Среди перспективных компонентов для получения смеси веществ, применяемых в питании человека в условиях холодного и жаркого климата важнейшая роль может быть отведена продуктам фармацевтической переработки пантов пятнистого оленя, представляющих собой сложную совокупность биохимически активных веществ со сложным биохимическим комплексом, являющимся источником большой биогенной силы [2, 3, 5], а так же препаратам флавоноидной природы, в частности, дигидрокверцетину [6, 10].

Цель настоящего исследования: провести токсиколого-гигиеническую оценку биологической активности смеси из продуктов фармацевтической переработки пантов и дигидрокверцетина в условиях эксперимента, изучить влияние указанной смеси на устойчивость организма экспериментальных животных к патогенному воздействию низких и высоких температур.

Материалы и методы исследования

Работа носит экспериментальный характер и соответствует этическим нормативным требованиям проведения доклинического исследования на основании заключения Комитета по биомедицинской этике Амурской государственной медицинской академии. Исследования выполнены на беспородных белых крысах-самцах весом 180-200 г, одного помета. Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария Амурской государственной медицинской академии, при естественном световом режиме, без ограничения доступа к воде и пище. Протокол экспериментальной части исследования на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием

животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), Приказе МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Применяли смесь в виде порошкообразной массы, состоящей из измельченных отходов фармацевтической переработки пантов пятнистого оленя и диgidрокверцетина, полученного из даурской лиственницы, в соотношении 1:1.

Изучение физико-химических свойств смеси включало определение растворимости в воде, спирте и органических растворителях. Органолептические свойства смеси изучены в соответствии с медико-биологическими требованиями и санитарными нормами качества продовольственного сырья и пищевых продуктов, утвержденными Минздравом СССР 01.08.89 №5061-89. Эксперименты по исключению токсичности проведены в ГОУ ВПО АГМА на базе лаборатории ЦНИЛ. Исследования выполнялись с определением физиологических, гематологических, гистологических показателей.

Антиокислительную активность смеси изучали на крысах при активации реакции перекисного окисления введением четыреххлористого углерода [1]. Поскольку основные деструктивные процессы при попадании этого яда в организм развиваются в печени, объектом нашего исследования явились печень, а также кровь, как наиболее реактивная ткань. В этих тканях определялось содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов, гидроперексидов липидов, малонового диальдегида и состояние антиоксидантной системы (каталаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа). Опыты выполнены на 50 белых крысах-самцах. Для исследования антиокислительной активности плазмы крови при остром токсическом поражении печени CCl_4 , использовали суспензию липопroteидов желтка куриных яиц.

Для исследования защитного действия смеси при холодом и тепловом воздействии у экспериментальных животных определяли физическую работоспособность – время плавания и работоспособность на тредбане [7]. Опыты выполнены на 180 крысах.

Изучение холодовых и тепловых адаптационных реакций животных проведено с использованием модели длительного холодового и теплового воздействия на 120 беспородных белых крысах. Исследование проводилось одновременно во всех экспериментальных группах в течение 28 дней. При завершении исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации на 7, 14, 21 и 28 день эксперимента с соблюдением требований гуманности согласно приложению № 4 к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления животного)»). Исследование проводилось на следующих

группах животных: 1 – интактная группа животных, находящихся в стандартных условиях вивария; 2 – контрольная группа, где крысы подвергались ежедневному охлаждению в климатоканере фирмы «Fentron» (Германия) по 3 часа при температуре -15°C [4]; 3 – контрольная группа, где животные подвергались ежедневному нагреванию в климатоканере фирмы «BIN-DEr GmbH» (Германия) в течение 1 часа при температуре $+40^{\circ}\text{C}$; 4 – подопытная, где непосредственно перед помещением в холодую климатоканеру крысам в небольшом количестве корма добавляли смесь в дозе 300 мг/кг; 5 – подопытная, где непосредственно перед помещением в тепловую климатоканеру крысам в небольшом количестве корма добавляли смесь в дозе 300 мг/кг. Содержание продуктов ПОЛ изучали в крови экспериментальных животных [11, 12], морфологические исследования тканей сердца, печени и легких проводили на 50 экспериментальных животных. Статистическую обработку результатов проводили по критерию Стьюдента (t) с использованием программы Statistica v.6.0. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате изучения содержания в смеси из продуктов фармацевтической переработки пантов и диgidрокверцетина санитарно-показательных микроорганизмов установлено, что количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов не выходит за пределы нормы, бактерий группы кишечной палочки и сальмонелл в изучаемых образцах не обнаружено. Комплексные токсикологические исследования по изучению острой, подострой токсичности, кумулятивных свойств, мутагенного, эмбриотоксического и местного раздражающего действия, проведение микробиологического анализа и органолептических исследований свидетельствует об отсутствии в изучаемой смеси токсических веществ, патогенных микроорганизмов и их токсинов, что подтверждает ее безвредность для теплокровного организма [8, 9].

Предварительное вскармливание подопытных животных в течение 30 дней смесью в дозе 300 мг/кг в день, а затем их острое отравление CCl_4 способствовало снижению содержания почти всех продуктов перекисидации и повышению активности ферментов. При введении смеси наблюдалось снижение концентрации гидроперексидов липидов в печени и крови крыс на 30 и 45%, соответственно, а так же снижало накопление малонового диальдегида в печени подопытных животных на 35%. Активность каталазы увеличилась в крови крыс на 22%, в печени – на 8%. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы после введения смеси повысилась в крови и печени животных на 40 и 43%, соответственно, что свидетельствует о выраженном антиоксидантном эффекте указанной смеси.

В экспериментальных исследованиях было выявлено, что устойчивость подопытных крыс к динамическим нагрузкам на организм при холодом и тепловом воздействии снижается. Это проявляется,

прежде всего, в уменьшении времени плавания животных, а также их бега на тредбане. В эксперименте мы предположили, что изучаемая смесь имеет свойство активизировать адаптогенные возможности организма к физическим нагрузкам в условиях высоких и низких температур. В результате мы выяснили возможность повышения устойчивости экспериментальных животных к физическому воздействию при использовании смеси из продуктов фармацевтической переработки пантов и дигидрокверцетина в стрессовых условиях

холода и жары.

Результаты экспериментальных исследований показали, что при длительном действии холода и тепла на теплокровный организм наблюдалось увеличение содержания всех продуктов ПОЛ на 7, 14, 21 и 28 день. Установлено, что введение смеси в дозе 300 мг/кг обладает антиоксидантным действием и снижает содержание продуктов ПОЛ во все сроки исследования (табл. 1, 2).

Таблица 1

Содержание продуктов ПОЛ в крови крыс (нмоль/мл) при длительном тепловом стрессе на фоне применения смеси из продуктов фармацевтической переработки пантов и дигидрокверцетина ($M \pm m$)

Изучаемые группы (по 10 животных в каждой)	Гидроперекиси липидов	Диеновые конъюгаты	Малоновый диальдегид
7 день эксперимента			
Интактные крысы	18,05±0,24	91,22±3,2	0,75±0,16
Контрольная	25,88±0,15*	110,71±2,5*	2,39±0,13*
Подопытная	20,92±0,18**	90,21±2,4**	1,05±0,25**
14 день эксперимента			
Интактные крысы	19,01±0,11	90,17±1,2	0,86±0,08
Контрольная	28,92±0,25*	105,15±1,5*	2,42±0,11*
Подопытная	19,4±0,15**	92,46±2,1**	1,01±0,4**
21 день эксперимента			
Интактные крысы	18,56±0,31	85,31±0,8	1,07±0,6
Контрольная	26,72±2,1*	107,67±1,2*	2,78±0,15*
Подопытная	19,73±0,14**	93,56±1,7**	1,35±0,4**
28 день эксперимента			
Интактные крысы	18,38±0,36	91,21±1,3	1,19±0,4
Контрольная	29,56±0,26*	103,94±1,4*	2,65±0,15*
Подопытная	16,97±0,52**	93,17±1,6**	1,23±0,27**

Примечание: звездочкой отмечены значения, статистически достоверно отличающиеся от показателей в группах интактных (*) и контрольных (**) животных ($p < 0,05$); контрольная группа – воздействие теплом, подопытная – воздействие теплом на фоне приема смеси в дозе 300 мг/кг.

Таблица 2

Содержание продуктов ПОЛ в крови крыс (нмоль/мл) при длительном холодном стрессе на фоне применения смеси из продуктов фармацевтической переработки пантов и дигидрокверцетина ($M \pm m$)

Изучаемые группы (по 10 животных в каждой)	Гидроперекиси липидов	Диеновые конъюгаты	Малоновый диальдегид
7 день эксперимента			
Интактные крысы	18,64±0,36	92,78±1,5	0,71±0,12
Контрольная	32,14±0,71*	113,78±2,2*	2,73±0,21*
Подопытная	24,84±1,4**	90,17±2,29**	0,98±0,10**
14 день эксперимента			
Интактные крысы	19,10±0,29	91,53±0,9	0,94±0,18
Контрольная	30,16±0,9*	125,64±1,5*	3,12±0,35*
Подопытная	20,94±0,92**	100,43±2,5**	1,43±0,20**
21 день эксперимента			
Интактные крысы	18,04±0,41	87,61±0,4	1,12±0,2
Контрольная	31,26±0,8*	120,57±1,3*	4,53±0,15*
Подопытная	23,98±0,31**	96,43±2,0**	1,70±0,11**
28 день эксперимента			
Интактные крысы	18,91±0,46	90,12±1,1	1,25±0,3
Контрольная	29,7±2,5*	121,91±3,20*	3,33±0,41*
Подопытная	21,72±0,57**	95,11±3,6**	1,31±0,35**

Примечание: звездочкой отмечены значения, статистически достоверно отличающиеся от показателей в группах интактных (*) и контрольных (**) животных ($p < 0,05$); контрольная группа – воздействие холодом, подопытная – воздействие холодом на фоне приема смеси в дозе 300 мг/кг.

Нами установлено, что при воздействии высокой температуры в миокарде экспериментальных животных имеются признаки развития сосудисто-структурной перестройки. На фоне приема смеси из продуктов фармацевтической переработки пантов и дигидрокверцетина в миокарде обоих желудочков уменьшается степень выраженности гемодинамических расстройств и отека интерстиция.

При тепловом стрессе в печени животных развиваются адаптационные и патологические изменения её структуры. На фоне приема крысами изучаемой смеси нормализуется кровенаполнение синусоидальных капилляров, однако со стороны соединительной ткани положительной динамики не наблюдается.

При длительном охлаждении организма в воздухоносных путях и респираторном отделе лёгких на фоне применения смеси из продуктов фармацевтической переработки пантов и дигидрокверцетина снижается уровень коллагенообразования в соединительной ткани, исчезают признаки спазма бронхов. В то же время сохраняются явления лимфоидной инфильтрации воздухоносных путей и респираторного отдела легких.

Выводы

1. Экспериментально доказано, что порошкообразная смесь из измельченных продуктов переработки пантов и дигидрокверцетина (1:1) по критериям эколого-гигиенической концепции питания человека является безопасной.

2. В опытах *in vivo* при активации процессов ПОЛ в организме животных четыреххлористым углеродом и влиянием низких и высоких температур установлено выраженное антиоксидантное действие смеси в дозе 300 мг/кг, которое реализуется предотвращением накопления продуктов ПОЛ.

3. Смесь из продуктов фармацевтической переработки пантов и дигидрокверцетина при ежедневном поступлении в организм крыс в дозе в 300 мг/кг отчетливо повышает устойчивость лабораторных животных к утомлению в условиях холодогового и теплогового стресса.

4. Применение в рационах питания лабораторных животных смеси из продуктов фармацевтической переработки пантов и дигидрокверцетина стабилизировало структурную организацию органов, непосредственно участвующих в поддержании гомеостаза при холодоговом и тепловом воздействии на организм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков, А.И. Микросомальное окисление. М.:

Наука, 1975. 324 с.

2. Володкина А.И., Луницын В.Г. Сравнительный анализ биохимического состава пантов разных природно-климатических зон // Проблемы пантового оленеводства и пути их решения: сб. науч. трудов СО РАСХН ВНИИПО. Барнаул, 2007. Т.3. С.181–185.

3. Доровских В.А., Воронин Н.И., Коршунова Н.В. Холод. Адаптация. Коррекция изменений. Благовещенск, 1998. 104 с.

4. Доровских В.А. Фармакологическая коррекция холодового воздействия в эксперименте: дис. ... д-ра мед. наук. М., 1987. 290 с.

5. Доровских В.А., Целуйко С.С. Антиоксидантные препараты различных химических групп в регуляции стрессирующих воздействий. Благовещенск: АГМА, 2004. 268 с.

6. Полимер дигидрокверцетина из древесины лиственницы / Иванова С.З. [и др.] // Химия растительного сырья. 2001. Вып.4. С.21–24.

7. Козырева Т.В. Адаптивные изменения температурной чувствительности человека в условиях холода, жары и длительной физической нагрузки // Физиология человека. 2006. Т.32, №6. С.103–108.

8. Красовский Г.Н., Жолдакова З.И. Методические указания по разработке и научному обоснованию предельно допустимых концентраций вредных веществ в воде водоемов. М., 1999. 75 с.

9. Методические указания по применению расчетных и экспресс-экспериментальных методов при гигиеническом нормировании химических соединений в воде водных объектов / Красовский Г.Н. [и др.]. М.: МЗ СССР, 1979. 26 с.

10. Плотников М.В., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск: ТГУ, 2005. С.228.

11. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоционата аммония // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н.Ореховича. М.: Медицина, 1977. С.64–66.

12. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Там же. С.63–64.

13. Dorovskikh V.A., Tseluyko S.S. Antioxidant preparations of different chemical groups in regulation of stressing influences // The 6th Russia-China pharmaceutical forum. Blagoveshensk, 2009. P.268.

14. Experimental estimation of reamberin and eleutherococcus in cold influence on the organism of warm-blooded animals in the experiment / Shapovalenko N.S. [et al.] // The 6th Russia-China pharmaceutical forum. Blagoveshensk, 2009. P.172.

Поступила 25.05.2011

Елена Евгеньевна Невмывако, ассистент кафедры гигиены, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95;

Elena E. Nevmyvako, 95 Gorkogo Str., Blagoveshensk, 675000;

E-mail: agma@amur.ru