

НАСТОЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В УСЛОВИЯХ
ХОЛОДОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Н.В.Симонова, В.А.Доровских, О.Н.Ли, М.А.Штарберг, Н.П.Симонова

*Амурская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ, 675000,
г. Благовещенск, ул. Горького, 95*

РЕЗЮМЕ

Повышение адаптационных возможностей человека к повреждающему воздействию холода при помощи фармакологических средств является важным моментом профилактики возникновения многих заболеваний и патологических состояний. В экспериментальных условиях исследована возможность коррекции свободнорадикального окисления липидов мембран организма крыс пероральным введением настоя на основе фитосбора из листьев березы, крапивы и подорожника. Животные были разделены на 3 группы, в каждой по 15 крыс: интактные животные, которые содержались в стандартных условиях вивария; контрольная группа, где крысы подвергались воздействию холода в течение 3 часов ежедневно; подопытная группа, где животным перед охлаждением ежедневно перорально вводили настой на основе сбора из листьев крапивы, березы и подорожника в дозе 5 мл/кг. Установлено, что ежедневное холодное воздействие в течение трех часов способствует повышению в крови экспериментальных животных содержания гидроперекисей липидов (на 20%), диеновых конъюгатов (на 29%), малонового диальдегида (на 21,5%) в сравнении с интактными крысами на фоне снижения активности основных компонентов антиоксидантной системы. Введение крысам настоя в условиях холодной нагрузки способствует достоверному снижению в плазме крови гидроперекисей липидов на 19%, диеновых конъюгатов – на 13%, малонового диальдегида – на 18% по сравнению с крысами контрольной группы. При анализе влияния настоя на активность компонентов антиоксидантной системы было установлено, что содержание церулоплазмينا в крови животных было достоверно выше аналогичного показателя у крыс контрольной группы на 22%, витамина Е – на 19%, каталазы – на 18%. Таким образом, использование указанного настоя в условиях длительного воздействия холода на организм экспериментальных животных приводит к стабилизации процессов пероксидации на фоне повышения активности основных компонентов антиоксидантной системы.

Ключевые слова: настой листьев березы, крапивы и подорожника, холодовой стресс, перекисное окисление липидов биологических мембран, продукты пероксидации, антиоксидантная система.

SUMMARY

TINCTURE OF MEDICINAL PLANTS AND
OXIDATIVE STRESS IN THE CONDITIONS OF

COLD EXPOSURE

N.V.Simonova, V.A.Dorovskikh, O.N.Li,
M.A.Shtarberg, N.P.Simonova*Amur State Medical Academy, 95 Gor/kogo Str.,
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

The increase of adaptation capabilities of a person to the damaging effect of cold with the help of pharmacological medicine is important at prophylaxis of different diseases and pathologies development. In experimental conditions the possibility to correct free radical lipid oxidation of rats' organism membranes was studied with the oral introduction of the tincture made of birch, nettle and plantain leaves. The animals were divided into three groups and each of them had 15 rats: intact animals which were held in standard conditions of vivarium; the control group in which rats were exposed to cold during three hours daily; and the experimental group in which before cooling animals had a daily oral intake of the tincture made of birch, nettle and plantain leaves in a dose of 5 ml/kg. It was found out that in the blood of experimental animals a daily cold exposure during three hours contributes to the increase of lipid hydroperoxides level (by 20%), of diene conjugate (by 29%), and of malonic dialdehyde (by 21.5%) against the decrease of antioxidant system activity in the blood of intact animals. The introduction of the tincture to rats in the conditions of cold exposure contributes to the reliable decrease in the blood of lipid hydroperoxides by 19%, of diene conjugates by 13%, of malonic dialdehyde by 18% in comparison with the rats of the control group. While analyzing the effect of the tincture on the activity of the components of antioxidant system it was shown that the level of ceruloplasmin in the blood of animals was reliably higher by 22%, of vitamin E by 19%, of catalase by 18% in comparison with the same parameters of the rats of the control group. So, the application of the mentioned tincture in the conditions of long cold exposure of the organism of experimental animals leads to the stabilization of the processes of peroxidation against the increase of antioxidant system activity.

Key words: tincture of birch, nettle and plantain leaves, cold stress, biological membranes lipid peroxidation, products of peroxidation, antioxidant system.

В последние годы получены убедительные данные, что окислительная деградация, возникающая вследствие накопления избытка продуктов окисления, способна вызывать «окислительный стресс», являющийся результатом общей неспецифической реакции клеток и организма на внешние воздействия, в частности, на

холодовую нагрузку [3, 4, 8]. При этом в клетках и тканях происходит изменение соотношения между стационарными уровнями антиоксидантов и прооксидантов, причем как однократное холодовое воздействие, так и многократное охлаждение организма животных ведет к активации процессов перекисидации с увеличением количества первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [2]. Для регулирования свободнорадикальных процессов применяют биологически активные соединения, проявляющие антиоксидантные свойства [1, 5], среди которых немаловажное значение имеют те растительные препараты, в состав которых входят биофлавоноиды, каротиноиды, эссенциальные жирные кислоты, поскольку фитопрепараты обладают высокой биодоступностью, низкой токсичностью, широким спектром регулирующих эффектов и поливалентностью лечебного действия [6]. В связи с этим исследование возможности коррекции процессов ПОЛ биомембран в условиях холодового стресса введением настоя на основе сбора из листьев крапивы, березы и подорожника вызывает интерес, поскольку сырье, используемое для приготовления настоя, доступно, технология получения рентабельна, спектр применения широк [7].

Цель исследования – изучение влияния настоя на основе сбора из листьев крапивы, березы, подорожника на интенсивность процессов ПОЛ биомембран в условиях холодового стресса.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в Центральной научно-исследовательской лаборатории Амурской государственной медицинской академии. Эксперимент проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 150-200 г в течение 21 дня.

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».

При завершении исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации с соблюдением требований гуманности согласно Приложению №4 «О порядке проведения эвтаназии умерщвления животного» к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к Приказу МЗ СССР №755 от 12.08.1977). Исследование одобрено Этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии, соответствует норма-

тивным требованиям проведения доклинических экспериментальных исследований (выписка из протокола №5 заседания Этического комитета АГМА от 21 декабря 2009 г.).

Охлаждение животных осуществляли ежедневно в условиях климатокamеры Fentron (Германия), создавая температурный режим -15°C с соблюдением адекватных условий влажности и вентиляции. Животные были разделены на 3 группы, в каждой по 15 крыс: 1 группа – интактные животные, которых содержали в стандартных условиях вивария; 2 группа – контрольная, где крысы подвергались воздействию холода в течение 3 часов ежедневно; 3 группа – подопытная, где животным перед охлаждением (время экспозиции – 3 часа) ежедневно перорально вводили настой на основе сбора из листьев крапивы, березы и подорожника в дозе 5 мл/кг [9], приготовление которого осуществляли по методике, описанной нами в ранее опубликованной работе [7]. Забой путем декапитации проводили на 22 сутки. Интенсивность процессов ПОЛ оценивали, исследуя в крови животных содержание гидроперекисей липидов (ГП), диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и компонентов антиоксидантной системы (АОС) – церулоплазмينا, витамина Е, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, каталазы по методикам, изложенным в ранее опубликованной нами работе [8]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Стьюдента (t) с помощью программы Statistica v.6.0. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Холод, являясь мощным прооксидантным фактором, способствует активации процессов ПОЛ биомембран у контрольных животных, о чем свидетельствовал достоверный рост уровня продуктов перекисидации в крови крыс относительно аналогичных показателей в интактной группе (ГП – на 20%, ДК – на 29%, МДА – на 21,5%) на фоне снижения активности основных компонентов АОС: церулоплазмينا – на 22%, витамина Е – на 17%, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы – на 16,5%, каталазы – на 27% (табл. 1, 2), что, на наш взгляд, вполне объяснимо, поскольку холодовый стресс индуцирует усиление продукции катехоламинов, следствием чего является активизация липолиза, разобщение окислительного фосфорилирования, усиление генерации активных метаболитов кислорода и процессов ПОЛ биомембран.

Исследование антиоксидантной активности настоя на основе сбора из листьев крапивы, березы, подорожника показало, что введение фитосбора животным на фоне холодового стресса препятствует накоплению токсических продуктов радикального характера: в сравнении с контрольной группой уровень ГП снизился на 19%, ДК – на 13%, МДА – на 18% (табл. 1). При этом в организме крыс на фоне приема настоя происходило повышение активности АОС: содержание церулоплазмينا в крови было достоверно выше на 22%, витамина Е – на 19%, каталазы – на 18% (табл. 2).

Таблица 1

Содержание продуктов ПОЛ в крови экспериментальных животных (нмоль/мл)

Группы животных	Гидроперекиси липидов	Диеновые конъюгаты	Малоновый диальдегид
Интактные крысы	28,6±1,5	31,2±2,6	4,4±0,3
Воздействие холода	35,6±1,1*	44,0±1,8*	5,6±0,4*
Воздействие холода и прием настоя	28,9±1,5**	38,4±1,1**	4,6±0,2**

Примечание: здесь и в следующей таблице * – достоверность различия показателей по сравнению с группой интактных животных ($p < 0,05$); ** – достоверность различия показателей по сравнению с группой животных, к которым применяли только воздействие холода ($p < 0,05$).

Таблица 2

Содержание компонентов АОС в крови экспериментальных животных

Показатели	Интактные крысы	Воздействие холода	Воздействие холода и прием настоя
Церулоплазмин, мкг/мл	26,8±1,4	21,0±0,6*	26,8±1,2**
Витамин Е, мкг/мл	45,8±2,0	38,0±1,8*	46,7±2,9**
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, мкмоль НАДФН л-1 с-1	6,7±0,3	5,6±0,2*	6,0±0,2
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ л-1 с-1	97,0±3,5	71,0±4,2*	85,8±4,5**

Таким образом, как показали проведенные исследования, введение настоя на основе фитосбора способствует стабилизации процессов пероксидации в теплокровном организме. Объяснение этому лежит, на наш взгляд, в наличии совокупного воздействия биологически активных веществ на организм, а ключевым влиянием обладают флавоноиды. Фенольные соединения растений представляют собой ароматические соединения с большим числом фенольных гидроксильных групп. Образующийся в результате отрыва атома водорода от молекул флавоноидов феноксильный радикал является стабилизированным (константа скорости реакции его гибели равна 0). Анализ структуры растительных фенольных соединений дал возможность Дж. Харборну еще в 1968 году утверждать, что главными функциональными группами флавоноидов, определяющими их поведение и химическую активность, являются фенольные гидроксилы. Фенолы легко окисляются, так как характеризуются более низкой энергией связи атома водорода (250-290 кДЖ/моль) в составе гидроксильных групп, чем энергия связи водорода (335-380 кДЖ/моль) в метиленовых группах углеводородной цепочки триацилглицеринов. Именно это свойство фенолов и

обуславливает их антиокислительный эффект в отношении углеводов [3]. Как раз поэтому, на наш взгляд, легко окисляясь, фенольные соединения в силу сопряженности окислительно-восстановительных реакций способствуют восстановлению других веществ в реакционной смеси или препятствуют их окислению. Фенольные антиоксиданты, в отличие от чистых восстановителей, способны даже в виде ничтожных добавок существенно ингибировать процесс окисления. Наряду с инактивацией окислительных свободных радикалов, фенольные соединения оказывают антиоксидантное действие с помощью другого биохимического механизма: многие фенольные соединения образуют довольно прочные и стабильные комплексы с ионами металлов, которые катализируют свободное окисление органических соединений при доступе молекулярного кислорода. Флавоноиды, обладающие комплексообразующей способностью с относительной безвредностью и малой токсичностью, ослабляют или выключают каталитическое действие свободных ионов тяжелых металлов. Третий вид антиокислительной активности фенольных соединений заключается в том, что аналогичная комплексообразующая активность фенолов проявляется и в отношении тех ионов металлов, кото-

рые включены в состав активных центров большинства окислительно-восстановительных ферментов или играют роль кофакторов или активаторов. Поэтому фенольные соединения выступают в качестве ингибиторов многих окислительных ферментов. Существование трех эффективных механизмов антиоксидантной активности делает фенольные соединения особенно эффективными антиоксидантами. Практически все они обладают антиокислительной активностью, однако активность возрастает с увеличением гидроксилирования их молекул, в результате чего можно констатировать, что из природных флавонолов наиболее высокая антиокислительная активность наблюдается у миритетина и кверцетина, содержащихся в исследуемых нами листьях крапивы, березы, подорожника. Наличие в молекуле кверцетина протонодонорной ОН-группы в положении С₃ усиливает антиоксидантную активность соединения, способствуя стабилизации феноксильных радикалов, образующихся из молекулы кверцетина в процессе ингибирования им свободных радикалов. В целом, природные антиоксиданты, входящие в состав исследуемых нами растений, представляют собой многокомпонентные системы со сложным и разноплановым характером взаимодействия между компонентами, которые встраиваются в физиологическую антиоксидантную систему клетки, интегрируясь с ней и формируя новые соотношения и взаимодействия между всеми компонентами системы, результатом чего является нормализация гомеостаза и повышение эффективности адаптивных механизмов в тепловом стрессе.

Выводы

1. Воздействие холода на организм экспериментальных животных способствует формированию окислительного стресса в условиях накопления продуктов радикального характера и снижения уровня основных компонентов АОС в крови крыс.

2. Использование в эксперименте настоя на основе сбора из листьев крапивы, березы и подорожника снижает интенсивность процессов перекисидации биомембран, что подтверждается уменьшением содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ на фоне повышения активности основных компонентов АОС в крови экспериментальных животных в условиях холодного стресса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антиоксидантные свойства лекарственных растений / В.Ф.Громова [и др.] // Хим.-фармацевт. журн. 2008. Т.42, №1. С.26–29.
2. Адаптогены и холодовой стресс: вчера, сегодня, завтра / В.А.Доровских [и др.]. Благовещенск: АГМА, 2006. 214 с.
3. В мире антиоксидантов / В.А.Доровских [и др.]. Благовещенск: АГМА, 2012. 106 с.
4. Сравнительная характеристика влияния дигидрокверцетина и витамина Е на продукты перекисного окисления липидов в крови лабораторных животных при холодовом воздействии / О.Г.Круглова [и др.] //

Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2011. Вып.40. С.71–73.

5. Оковитый С.В., Шуленин С.Н., Смирнов А.В. Клиническая фармакология антигипоксантов и антиоксидантов. СПб.: ФАРМиндекс, 2005. 72 с.

6. Разина Т.Г. Фитопрепараты и биологически активные вещества лекарственных растений в комплексной терапии злокачественных новообразований (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 2006. 48 с.

7. Влияние настоя на основе сбора из листьев крапивы, березы и подорожника на интенсивность процессов перекисидации в условиях ультрафиолетового облучения / Н.В.Симонова [и др.] // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып.44. С.90–94.

8. Симонова Н.В., Доровских В.А., Штарберг М.А. Адаптогены в коррекции процессов перекисного окисления липидов биомембран, индуцированных воздействием холода и ультрафиолетовых лучей // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2011. Вып. 40. С.66–70.

9. Пат. 2424580 RU. Способ повышения антиоксидантного статуса теплокровного организма в условиях ультрафиолетового облучения / Н.В.Симонова, В.А.Доровских, Р.А.Анохина, И.В.Симонова; опубл. 22.12.2009.

REFERENCES

1. Gromovaya V.F., Shapoval G.S., Mironyuk I.E., Nestyuk N.V. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal* 2008; 42(1): 26–29.
2. Dorovskikh V.A., Korshunova N.V., Krasavina N.P., Simonova N.V., Tikhonov V.I., Simonova N.P. *Adaptogeny i kholodovoy stress: vchera, segodnya, zavtra* [Adaptogens and cold stress: yesterday, today, tomorrow]. Blagoveshchensk: AGMA; 2006.
3. Dorovskikh V.A., Tseluyko S.S., Simonova N.V., Anokhina R.A. *V mire antioksidantov* [In the world of antioxidants]. Blagoveshchensk: AGMA; 2012.
4. Kruglova O.G., Dorovskikh V.A., Tikhonov V.I., Kruglova T.G. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2011; 40:71–73.
5. Okovityy S.V., Shulenin S.N., Smirnov A.V. *Klinicheskaya farmakologiya antigipoksantov i antioksidantov* [Clinical pharmacology of antihypoxic agents and antioxidants]. St. Petersburg: FARMindex; 2005.
6. Razina T.G. *Fitopreparaty i biologicheski aktivnye veshchestva lekarstvennykh rasteniy v kompleksnoy terapii zlokachestvennykh novoobrazovaniy (eksperimental'noe issledovanie): avtoreferat dissertatsii doktora biologicheskikh nauk* [Phytopreparations and biologically active substances of medicinal plants in the complex therapy of malignant tumors (experimental study): abstract of thesis... doctor of biological sciences]. Tomsk; 2006.
7. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Shtarberg M.A., Simonova N.P. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2012; 44:90–94.
8. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Shtarberg M.A. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2011; 40:66–70.
9. Simonova N.V., Dorovskikh V.A., Anokhina R.A., Simonova I.V. Patent 2424580 RU. *Sposob povysheniya*

antioksidantnogo statusa teplokrovnogo organizma v usloviyakh ul'trafiol'tovogo oblucheniya (Patent 2424580 RU. A way to improve the antioxidant status of the hot-

blooded organism in the conditions of the UV-irradiation); published 22.12.2009.

Поступила 13.05.2013

Контактная информация

*Наталья Владимировна Симонова,
доктор биологических наук, доцент кафедры фармакологии,
Амурская государственная медицинская академия,
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95.
E-mail: simonova.agma@yandex.ru*

Correspondence should be addressed to

*Natal'ya V. Simonova,
MD, PhD, Associated professor of Department of Pharmacology,
Amur State Medical Academy,
95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.
E-mail: simonova.agma@yandex.ru*