

УДК 616.24-005.98:616-092.9]638.145.6:57.021

АПИНГАЛИН СНИЖАЕТ СТЕПЕНЬ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ
ПРИ ОТЕКЕ ЛЕГКИХ У КРЫСВ.Н.Крылов¹, Е.И.Ерлыкина², С.В.Копылова¹, А.А.Анашкина²¹Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского Министерства образования и науки РФ,
603950, г. Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23²Нижегородская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ,
603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

РЕЗЮМЕ

Цель исследования — изучение влияния курсовой ингаляции смеси на основе прополиса и маточного молочка пчел «Апингалин» на степень эндогенной интоксикации при экспериментальном отеке легких у крыс. Были исследованы кровь, моча и гистологические срезы печени 90 белых крыс-самцов, массой 0,15–0,2 кг. Животные были разделены на группы: интактные животные; контроль — животные, которым воспроизводился адреналовый отек легких; опыт — животные, которым воспроизводился отек, а затем проводилась курсовая ингаляция препаратом (10 дней по 10 минут). Забор всех видов биологического материала осуществляли на 11-й день после начала эксперимента. Степень эндогенной интоксикации организма оценивали по белковому профилю в высохшей капле сыворотки крови. О функциональной активности почек судили по концентрации молекул средней массы в плазме и моче экспериментальных животных. Влияние препарата «Апингалин» на клетки печени при отеке легких изучали по гистологическим препаратам и количеству общего белка, фибриногена в плазме. Было установлено, что при экспериментальном адреналовом отеке легких у крыс развивалась эндогенная интоксикация, которая выражалась в увеличении количества молекул средней массы на эритроцитах и в плазме крови, на фоне снижения данного показателя в моче, а так же в изменении нормального соотношения между альбуминами и глобулинами в сыворотке крови по сравнению с интактной группой животных; нарушалась морфологическая картина ткани печени (дистрофия гепатоцитов). Курсовая ингаляция препарата на основе прополиса и маточного молочка пчел «Апингалин» альтерированным животным позволила снизить уровень эндогенной интоксикации, что проявлялось в снижении общей токсичности крови (уменьшение молекул средней массы на эритроцитах и в плазме, нормализации белкового состава сыворотки), улучшении гистологической картины печени (восстановление кровоснабжения, выраженная митотическая активность клеток) и нормализации работы почек.

Ключевые слова: маточное молочко пчел, прополис, легкие, печень, почки, эндогенная интоксикация, молекулы средней массы, белковый профиль.

SUMMARY

APINGALIN DECREASES THE DEGREE OF

ENDOGENOUS INTOXICATION AT
PULMONARY EDEMA IN RATSV.N.Krylov¹, E.I.Erlykina², S.V.Kopylova¹,
A.A.Anashkina²¹Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod,
23 Gagarin Ave., 603950, Nizhny Novgorod,
Russian Federation²Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin
and Pozharsky Sq., Nizhny Novgorod,
603005, Russian Federation

The purpose of the study is to investigate the influence of exchange rate inhalation mixture based on propolis and royal jelly "Apingalin" on the degree of endogenous intoxication in experimental pulmonary edema in rats. Blood, urine and histologic liver sections of 90 white male rats weighing 0.15 to 0.2 kg were studied. The animals were divided into groups: intact animals; control animals in which adrenal pulmonary edema was replicated; experience animals which first had pulmonary edema replicated and which then inhaled "Apingalin" (10 days by 10 minutes). The intake of all types of biological material was carried out at the 11th day after the beginning of the experiment. The degree of endogenous intoxication was assessed by the protein profile of the dried drop of blood serum. Kidneys functional activity was assessed by the concentration of middle molecules in plasma and urine of experimental animals. The effect of "Apingalin" on liver cells in pulmonary edema was studied by histological specimen and the quantity of total protein and fibrinogen in plasma. It was found out that at the adrenal experimental pulmonary edema in rats endogenous intoxication developed; it was revealed through the increase in the number of middle molecules on erythrocytes and in plasma, with its decrease in the urine, and in the change of the normal ratio between albumins and globulins in serum in comparison with intact animals; a morphological picture of the liver tissue was damaged (degeneration of hepatocytes). Course inhalation of the mixture based on propolis and royal jelly "Apingalin" allowed to reduce the level of endogenous intoxication in alternative animals, which was shown through the decrease of overall toxicity of the blood (the decrease in the number of middle molecules on erythrocytes and in plasma, the normalization of the protein composition of serum), improvement of histology of the liver (the restoration of blood flow, expressed mitotic activity of the cells) and normalization of kidney function.

Key words: royal jelly, bee propolis, lungs, liver, kidneys, endogenous intoxication, middle molecules, protein profile.

На современном этапе развития общества заболевания легких являются острой социально значимой проблемой в связи с ухудшающейся экологической обстановкой, распространенностью курения и инфекционных заболеваний респираторного аппарата.

Патологические процессы в легких потенциально являются пусковым механизмом для развития эндогенной интоксикации. В большинстве подобных случаев экстренная детоксикационная терапия не требуется. Однако для сокращения сроков выздоровления и улучшения качества жизни пациентов необходимо свести уровень эндогенной интоксикации к минимуму. Перспективными в этом направлении являются продукты пчеловодства, такие как маточное молочко и прополис. Они обладают антиоксидантной активностью [5–8], биостимулирующими и гепатопротекторными свойствами, а также характеризуются минимальными побочными действиями [3, 4]. Вместе с тем, возможности совместного применения пчелопродуктов изучены недостаточно. На кафедре биохимии и физиологии института биологии и биомедицины Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского было разработано средство, обладающее бронхорасширяющим действием на основе маточного молочка пчел и прополиса для ингаляционного введения (патент РФ № 2174002) с рабочим названием «Апингалин».

Вещества, входящие в состав изучаемого средства – уникальны, созданы природой и оптимально сбалансированы по составу аминокислот, антиоксидантов, микро- и макроэлементов. Немаловажным фактором является и то, что прополис и маточное молочко пчел относительно безопасны для человека.

Целью данной работы являлось изучение влияния курсовой ингаляции препарата на основе прополиса и маточного молочка пчел «Апингалин» на степень эндогенной интоксикации при экспериментальном отеке легких у крыс.

Материалы и методы исследования

Для исследования использовали 90 половозрелых крыс (самцов) массой 0,15–0,2 кг. Животные были получены из питомника лабораторных животных филиала «Андреевка» ФГБУН БМТ ФМБА России, Московская область.

Животных содержали в виварии, оборудованном согласно требованиям «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» №1045-73. Исследования осуществляли в соответствии с правилами проведения работ и использования экспериментальных животных (Приложение к Приказу МЗ СССР №775 от 12.08.77), Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г. и ФЗ РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997. Животные находились в одинаковых пластиковых клетках с поилками, получали

полноценный экструдированный комбикорм и достаточное количество воды.

Животные были разделены на группы: *интактные* животные; *контроль* – животные, которым воспроизводили адреналовый отек легких (адреналин вводился внутривентриально в дозе 0,5 мг/кг); *опыт* – животные, которым воспроизводили отек, а затем производилась курсовая ингаляция апингалина (10 дней по 10 мин).

Забор всех видов биологического материала (кровь, моча, ткани печени) осуществляли на 11-й день после начала эксперимента. Степень эндогенной интоксикации организма экспериментальных животных оценивали по количеству общего белка, фибриногена в плазме, белковому профилю в высохшей капле сыворотки крови, концентрации молекул средней массы (МСМ) в плазме и моче (Кигслей-Вейксельбаум, 2002; Обухова, Конторщикова, 2008). Морфологические изменения в ткани печени исследовали методом световой микроскопии с помощью Biological Microscope MT 4200L (Meiji Techno, Япония). При окрашивании использовали гематоксилин-эозиновый краситель.

Для приготовления Апингалина использовали прополис (ГОСТ 28886-90, ВФС 42-1084-81) и маточное молочко (ГОСТ 28888-90, ВФС 42-1291-83).

Результаты обрабатывались статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Было установлено, что у животных контрольной группы на фоне значительного роста концентрации МСМ на эритроцитах (в 1,7 раза) и в плазме (в 1,2 раза) происходило снижение данного показателя в моче крыс в 2,4 раза по сравнению с интактной группой (табл. 1). Что убедительно доказывает неспособность почек выводить водорастворимые фракции МСМ.

Отклонения были выявлены и по другим биохимическим параметрам крови, которые являются маркерами эндогенной интоксикации организма. Так, нами было обнаружено понижение концентрации общего белка плазмы крови на 44,5%, фибриногена – на 29,8%, доли альбуминов – на 5,3%, β -глобулинов – на 2,9%, что сопровождалось повышением доли α -глобулинов в сыворотке на 4,5%, γ -глобулинов – на 4,7% по отношению к норме (табл. 1, 2). Такой дисбаланс в протеинограмме сыворотки крови экспериментальных животных при отеке легкого служит убедительным признаком морфофункциональных изменений в ткани печени.

На гистологических срезах печени крыс контрольной группы наблюдались нарушения кровоснабжения – плазматизация, как в центральных, так и в малых сосудах, что свидетельствовало об уменьшении кровенаполнения органа и, как следствие, гипоксии. Со стороны гепатоцитов как в центре, так и на периферии отмечались изменения по типу зернистой дистрофии, в некоторой степени до вакуольной дистрофии. Выявленные морфологические изменения свидетельствовали о невозможности выведения гидрофобной фракции МСМ из организма экспериментальных животных.

Таблица 1

Влияние ингаляций Апингалина на содержание молекул средней массы в разных биосредах, общего белка и фибриногена крови крыс с отеком легких

Показатели	Группы животных		
	Интактная	Контрольная	Опытная
МСМ плазмы, усл. ед.	10,68±0,20	12,42±0,85*	3,40±0,25**
МСМ эритроцитов, усл. ед.	13,06±1,27	22,00±1,36*	15,50±0,26"
МСМ мочи, усл. ед.	21,18±1,28	8,84±0,31*	25,88±1,96**
Общий белок, г/л	45,50±3,24	25,25±2,73*	50,00±1,15**
Фибриноген, мг/см ³	10,04±0,06	7,02±0,05*	8,21±0,06**

Примечание: здесь и в следующей таблице * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) по отношению к интактной группе; " – статистически значимые различия ($p < 0,05$) по отношению к контрольной группе.

Таблица 2

Влияние ингаляций Апингалина на соотношение (в %) фракций белков сыворотки крови крыс с отеком легких

Показатели	Группы животных		
	Интактная	Контрольная	Опытная
альбумины	53,07±0,79	47,76±0,97*	53,01±1,02"
α-глобулины	12,00±0,45	16,55±1,16*	11,59±0,65"
β-глобулины	13,95±2,55	11,03±2,11	16,01±1,70
γ-глобулины	20,11±5,53	23,96±4,83	19,36±7,44

Таким образом, при экспериментальном адrenaловом отеке легких у крыс наблюдалась третья фаза развития эндогенной интоксикации – фаза полного насыщения организма эндогенными токсинами, что сопровождалось неспособностью почек и печени выводить токсические продукты.

После ингаляций препаратом «Апингалин» у крыс опытной группы происходило снижение общей токсичности крови (табл. 1): уменьшение МСМ на эритроцитах на 49,8% по сравнению с контролем, а в плазме – почти в 3 раза. Вместе с тем наблюдалось значительное повышение концентрации МСМ в моче (в 3 раза по сравнению с контролем), что соответствует латентной стадии развития эндогенной интоксикации. По-видимому, курсовая ингаляция Апингалина способствовала выведению гидрофильной фракции МСМ из организма.

На гистологических срезах печени опытной группы крыс наблюдалась нормализация кровоснабжения на фоне незначительного интерстициального отека. Отмечались лишь единичные гепатоциты с зернистой дистрофией. Как в центре, так и на периферии в гепатоцитах выявлялась выраженная митотическая активность. Следовательно, состояние печени после курса ингаляций Апингалином улучшалось. Что было подтверждено биохимическими показателями плазмы крови опытной группы животных.

В протеинограмме плазмы крови крыс нами было отмечено повышение концентрации как общего белка почти в 2 раза по сравнению с контролем, так и фибриногена на 11,9%. При сравнении полученных дан-

ных о соотношении белков было обнаружено, что белковый состав сыворотки крыс опытной группы приближался к таковому интактной (табл. 2). Так, доля альбуминов увеличилась на 5,2% по сравнению с контролем, а α-глобулинов снизилась на 5,0% на фоне незначительного изменения долей β- и γ-глобулинов. Эти результаты иллюстрируют восстановление синтетической активности печени.

Полученный терапевтический эффект при применении ингаляционного препарата на основе прополиса и маточного молочка пчел может быть обусловлен рядом механизмов.

Ранее проведенными исследованиями было установлено, что препарат на основе прополиса и маточного молочка пчел обладает бронходилатирующим эффектом, а, следовательно, может устранять возникшую при данной альтерации функций организма гипоксию органов и тканей, нормализуя их функциональное состояние [1, 2].

Выбранная нами экспериментальная модель отека легкого характеризуется активацией процессов свободнорадикального окисления липидов и белков, что приводит к накоплению токсических веществ, которые оказывают повреждающее действие на различные структуры клетки, и являются эндопатогенами. Применяя в виде антиоксидантной терапии препарат «Апингалин», по-видимому, удалось опосредованно снизить интенсивность образования токсинов, уменьшить повреждающее действие МСМ на печень и способствовать их выведению почками.

Выводы

1. Экспериментальный адреналовый отек легких вызывал развитие эндогенной интоксикации, которая характеризовалась нарушением соотношения белковых фракций протеинограммы, неспособностью почек выводить эндотоксины, изменением морфофункциональных характеристик печени.

2. Курсовая ингаляция препарата на основе прополиса и маточного молочка пчел «Апингалин» альтерированным животным позволила снизить уровень эндогенной интоксикации, что проявлялось в снижении общей токсичности крови (уменьшение молекул средней массы на эритроцитах и в плазме, нормализации белкового состава сыворотки) и улучшении работы детоксицирующего и выводящего органов крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анашкина А.А., Копылова С.В., Крылов В.Н. Влияние апингалина на белки и фосфолипиды крови крыс при моделировании отека легких // Вестник Нижегородского университета им. Н.И.Лобачевского. 2011. №2-2. С.169–173.
2. Действие комплексного препарата на основе маточного молочка пчел и прополиса при отеке легких у крыс / В.Н.Крылов, С.В.Копылова, Ю.А.Старатева, В.П.Смирнов // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2015. Вып.55. С.91–94.
3. Клиническое применение маточного молочка / Ш.М.Омаров, Б.Н.Орлов, З.Ш.Магомедова, З.М.Омарова // Пчеловодство. 2011. №8. С.58–60.
4. Correlation between antiangiogenic activity and antioxidant activity of various components from propolis / M.R.Ahn [et al.] // Mol. Nutr. Food Res. 2009. Vol.53, №5. P.643–651.
5. 10-Hydroxy-2-decenoic Acid, a Major Fatty Acid from Royal Jelly, Inhibits VEGF-induced Angiogenesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells / H.Izuta [et al.] // Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2009. Vol.6, №4. P.489–494.
6. Münstedt K., Bargello M., Hauenschild A. Royal Jelly Reduces the Serum Glucose Levels in Healthy Subjects // J. Med. Food. 2009. Vol.12, №5. P.1170–1172.
7. Neuroprotective Effects of Brazilian Green Propolis

and its Main Constituents against Oxygen-glucose Deprivation Stress, with a Gene-expression Analysis / Y.Nakajima [et al.] // Phytother. Res. 2009. Vol.23, №10. P.1431–1438.

8. Antioxidative Effect of Royal Jelly in Cisplatin-induced Testes Damage / S.Silici [et al.] // Urology. 2009. Vol.74, №3. P.545–551.

REFERENCES

1. Anashkina A.A., Kopylova S.V., Krylov V.N. Effects of Apingalin on protein and phospholipids in the blood of rats with simulated pulmonary edema. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta imeni N.I. Lobachevskogo* 2011; 2-2:169–173 (in russian).
2. Krylov V.N., Kopylova S.V., Starateleva J.A., Smirnov V.P. Effect of the complex medication made of bee royal jelly and propolis at pulmonary edema of rats. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2015; 55:91–94 (in russian).
3. Omarov Sh.M., Orlov B.N., Magomedova Z.Sh., Omarova Z.M. *Pchelovodstvo* 2011; 8:58–60 (in russian).
4. Ahn M.R., Kunimasa K., Kumazawa S., Nakayama T., Kaji K., Uto Y., Hori H., Nagasawa H., Ohta T. Correlation between antiangiogenic activity and antioxidant activity of various components from propolis. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009; 53(5):643–651.
5. Izuta H., Chikaraishi Y., Shimazawa M., Mishima S., Hara H. 10-Hydroxy-2-decenoic Acid, a Major Fatty Acid from Royal Jelly, Inhibits VEGF-induced Angiogenesis in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2009; 6(4):489–494.
6. Münstedt K., Bargello M., Hauenschild A. Royal Jelly Reduces the Serum Glucose Levels in Healthy Subjects. *J. Med. Food* 2009; 12(5):1170–1172.
7. Nakajima Y., Shimazawa M., Mishima S., Hara H. Neuroprotective Effects of Brazilian Green Propolis and its Main Constituents against Oxygen-glucose Deprivation Stress, with a Gene-expression Analysis. *Phytother. Res.* 2009; 23(10):1431–1438.
8. Silici S., Ekmekcioglu O., Eraslan G., Demirtas A. Antioxidative Effect of Royal Jelly in Cisplatin-induced Testes Damage. *Urology* 2009; 74(3):545–551.

Поступила 09.11.2015

Контактная информация

Василий Николаевич Крылов,

доктор биологических наук, профессор,

профессор кафедры биохимии и физиологии Института биологии и биомедицины,

Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского,

603950, г. Нижний Новгород, просп. Гагарина, 23.

E-mail: kfg@bio.unn.ru

Correspondence should be addressed to

Vasily N. Krylov,

PhD, Professor, Professor of Department of Biochemistry and Physiology

of Institute of Biology and Biomedicine,

Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod,

23 Gagarin Ave., 603950, Nizhny Novgorod, Russian Federation,

E-mail: kfg@bio.unn.ru