http://www.uchzap.com ISSN 2500-1701 ISSN 2542-0070 (online)

УДК:613.3

Сергей Тихонович Кохан[1],
кандидат медицинских наук, доцент,
Забайкальский государственный университет
(672039, Россия, г. Чита, ул. Александро-Заводская, 30),
e-mail: ispsmed@mail.ru

Андрей Владимирович Патеюк[2],
доктор медицинских наук, профессор,
Забайкальский государственный университет
(672039, Россия, г. Чита, ул. Александро-Заводская, 30),
e-mail: ispsmed@mail.ru

Влияние водного экстракта лиственницы сибирской на процессы перекисного окисления липидов при стрессе в эксперименте

В Сибирском регионе активно развиваются производства деревообработки. Отходами такого производства являются опилки. Остро стоит вопрос об утилизации таких отходов. В настоящее время многие люди испытывают повышенные эмоциональные нагрузки, гиподинамию и т. д., что приводит к снижению резистентности организма. Прием растительных средств повышает эффективность защитных и компенсаторных механизмов, нормализует обменные процессы, усиливает выведение токсических метаболитов из организма. Приём адаптогенных препаратов приводит к изменению обмена веществ. Под влиянием таких препаратов отмечается снижение патологических биохимических, физиологических и функциональных нарушений белкового, углеводного, липидного и водно-солевого обменов; клетками повышается утилизация глюкозы, происходит мобилизация депо липидов и, как следствие, повышение использования липидов в качестве субстратов окисления; при экстремальных воздействиях снижается истощение гипофиз-адреналовой системы. Исходя из изложенного, проведённое исследование доказало, что применение экстракта «Экстрапинус» снижает патологические нарушения, возникающие на фоне стресса. Учитывая отсутствие в рекомендованных дозах токсичности, можно рекомендовать его применение при стрессе. В эксперименте доказано, что экстракт «Экстрапинус» восстанавливает энергетический потенциал клеток при моделировании стресса, нормализует баланс в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита», энергетический потенциал клеток, поддерживает нормальное содержание тиолов в организме животного на фоне стресса.

Ключевые слова: водный экстракт, лиственница сибирская, перекисное окисление липидов

[1] *С. Т. Кохан* – сбор материала, анализ, систематизация материала.
[2] *А. В. Патеюк* – анализ, работа с литературой, оформление статьи.

 © Кохан С.Т., Патеюк А. В., 2017

***Sergey T. Kokhan*[1],**
Candidate of Medical Science, Associate Professor,
Transbaikal State University
(30 Aleksandro-Zavodskaya st., Chita, 672039, Russia),
e-mail: ispsmed@mail.ru

***Andrey V. Pateyuk*[2],**
Doctor of Medical Science, Professor,
Transbaikal State University
(30 Aleksandro-Zavodskaya st., Chita, 672039, Russia),
e-mail: ispsmed@mail.ru

Influence of Siberian Larch Water Extract on Processes of Peroxide Oxidation of Lipids under Stress in an Experiment

Woodworking production is actively developing in the Siberian region. Waste of such production is sawdust. The question of utilization of such waste is particularly acute. A lot of people are currently experiencing heightened emotional strain, hypodynamia, etc. that lead to decrease in organism resistance. Acceptance of vegetable means increases efficiency of protective and compensatory mechanisms, normalizes exchange processes, strengthens removal of toxic metabolites from the organism. Taking adaptogenic medicines results in metabolic changes. Under the influence of such medicines decrease in pathological biochemical, physiological and functional violations of protein, carbohydrate, lipid and water-salt exchanges is noted; glucose utilization increases, there is a mobilization of lipid depot and, as a result, increase in use of lipids as oxidation substrata; in case of extreme impacts depletion in a hypophysis- adrenal system decreases. Based on the above-mentioned, the research carried out proved that use of Ekstrapinus extract reduces pathological violations caused by stress. Considering absence of toxicity, it is possible to recommend its application in the recommended doses in case of a stress. In an experiment it is proved that Ekstrapinus extract recovers energy potential of cells when modeling a stress, normalizes balance in the system “peroxide oxidation of lipids – antioxidant protection”, energy potential of cells maintains normal thiols content in an animal organism against the background of a stress.

Keywords: water extract, Siberian larch, peroxide oxidation of lipids

Введение. В настоящее время стоит вопрос об утилизации различных отходов. В Сибирском регионе активно развивается деревообрабатывающее производство. Отходами такого производства являются опилки, которые часто прессуются в брикеты для отопления. Такое использование опилок не всегда эффективно. Мы предлагаем способ экстракции биологически активных веществ из опилок и дальнейшее использование сухого остатка для изготовления тех же брикетов для отопления. Современные инновационные технологии захватывают различные отрасли науки. Не осталась в стороне и биотехнология [3]. На основании изучения состава и свойств веществ природного происхождения синтезируют новые биопрепараты, которые в дальнейшем могут использоваться как в промышленности, так и в медицине [2–4].

В современное время широко рекламируются и используются различные растительные биодобавки и биостимуляторы, которые эффективны при лечении многих заболеваний. Кроме того, такие препараты применяются в качестве профилактических средств. В составе данных препаратов определяются такие вещества, как: витамины, микроэлементы, интерфероны, интерлейкины и пептидные компоненты. Следовательно, состав даёт возможность применять эти препараты при различных патологиях, таких как гиповитаминозы, микроэлементозы, иммунодефициты и т. д.

Так, использование биопрепаратов при различных онкологических заболеваниях тормозит процессы метастазирования и блокирует питание опухоли [1]. Получение препаратов из растительного сырья известно давно и до сих пор пользуется успехом при лечении различных заболеваний.

В настоящее время многие люди испытывают повышенные эмоциональные нагрузки, гиподинамию и т. д., что приводит к снижению резистентности организма. Приём растительных средств повышает эффективность защитных и компенсаторных механизмов, нормализует об-

[1] *S. T. Kokhan* – material collection, analysis, material systematization.
[2] *A. V. Pateyuk* – analysis, work with literature, execution of article.

менные процессы, усиливает выведение токсических метаболитов из организма. Приём адаптогенных препаратов приводит к изменению обмена веществ. Под влиянием таких препаратов отмечается снижение патологических биохимических, физиологических и функциональных нарушений белкового, углеводного, липидного и водно-солевого обменов; клетками повышается утилизация глюкозы, происходит мобилизация депо липидов и, как следствие, повышение использования липидов в качестве субстратов окисления; при экстремальных воздействиях снижается истощение гипофиз-адреналовой системы [2; 4–6; 11; 12]. Исходя из сказанного, мы решили изучить влияние водного экстракта из лиственницы сибирской «Экстрапинус» на энергетический обмен и процессы перекисного окисления липидов при экспериментальном стрессе.

Материалы и методы исследования. Экстракцию проводили путём смешивания опилок лиственницы сибирской и воды по массовым частям в соотношении 1 : 10 в течение 24 ч при температуре 70 °С. Далее полученный экстракт охлаждали до 20 °С и отфильтровывали через бязевый фильтр, разливали во флаконы по 100 мл. Полученный раствор хранился не более 3 мес. при комнатной температуре.

Содержание аминокислот определяли на высокоэффективном жидкостном хроматографе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония). В хроматографе использовали спектрофотометрический детектор с диодной матрицей SPD-M20A, насос высокого давления LC-20AD и ручной инжектор 7725i Rheodyne (США) с петлёй на 20 мкл. Для управления хроматографом и анализа хроматограмм применяли компьютерную программу «LabSolutions», версия 1,25 SP1 (Shimadzu, Япония). Использовали колонку Luna C18(2) 100×4,6 мм, 5 мкм, около 5700 TT (Phenomenex, США) и предколоночный тефлоновый фильтр с диаметром пор 0,5 мкм (Supelco, США). Так же применяли ультрацентрифугу SIGMA 3K30 (Sigma, США) и вортекс (IKA, Германия) [9].

Содержания микроэлементов в экстракте определяли методами масс-спектрометрии и атомно-элементной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на аппаратуре: квадрупольный масс-спектрометр Nexion 300D (Perkin Elmer, USA) и атомно-эмиссионный спектрометр Optima 2000 DV (Perkin Elmer, USA) [1].

В серии предварительных экспериментов была определена острая токсичность экстракта «Экстрапинус». Опыты проведены на белых беспородных крысах обоего пола массой 160–180 г. По методу Кербера определяли острую токсичность экстракта «Экстрапинус» при его однократном внутрижелудочном введении в объёмах 1,0–5,0 мл/кг массы животного [3].

Животные всех контрольных групп получали эквиобъёмное количество дистиллированной воды. В течение 14 дней с момента введения испытуемого средства осуществляли наблюдение за животными. В течение всего периода эксперимента отмечали изменения общего состояния и поведения животных. Особое внимание обращали на видимые признаки интоксикации. Все проводимые этапы эксперимента соответствовали требованиям Международных правил гуманного отношения к животным, отражённым в Санитарных правилах по оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) [1; 8]. Так же все работы проведены в соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [8].

Стресс у крыс вызывали путём иммобилизации в течение 24 ч. Крысы 1-й группы употребляли «Экстрапинус» по 5 мл/кг массы в течение 1 раза в день в течение 14 сут. Животные второй группы получали эквиобъёмное количество воды.

Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом путём декапитации. После этого у крыс в гомогенате скелетной мышцы определяли содержание АТФ [8]. В сыворотке крови исследовали концентрацию молочной и пировиноградной кислот. Расчитывали окислительно-восстановительный потенциала по отношению МК/ПВК [8]. Содержание гликогена определяли в гомогенате печени (Seifter, 1950) [7].

По приросту уровня малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови и гомогенате тканей, который определяли в цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой, судили об интенсивности СРО по методу И. Д. Стальной и др. [7].

Спектрофотометрическими методами проводили оценку активности ферментов антирадикальной защиты. По ингибированию скорости восстановления нитросинего тетразолия в неэнзиматической системе феназинметасульфата и НАДН при 540 нм оценивали активность супе-

роксиддисмутазы (СОД) по методу Э. Н. Коробейниковой. В цветной реакции образования комплекса пероксида водорода с молибдатом аммония, поглощающего при 410 нм, определяли активность каталазы по методу М. А. Королюк, Л. И. Ивановой, И. Г. Майоровой [7].

По образованию тионитрофенильного аниона, имеющего максимум поглощения при длине волны 412 нм, в реакции с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой определяли концентрацию восстановленного глутатиона по методике G. L. Ellman [7].

Статистическую обработку материалов осуществляли на ПК. Результаты абсолютных значений по всем параметрам представляли в виде среднего ± среднеквадратичное отклонение от среднего (M±m).

Результаты и их обсуждение. Установлено, что в водном экстракте содержится (в микромоль/л): аланин (Ala) – 156,83; аргенин (Arg) – 5,78; аспартат (Asp) – 233,82; аспарагин (Asp) – 36,66; валин (Val) – 78,47; гистидин (His) – 34,22; глицин (Gly) – 7,74; глутамат (Glu) – 116,84; глутамин (Gln) – 45,67; изолейцин (Ile) – 10,13; лейцин (Ltu) – 54,66; лизин (Lys) – 13,98; метионин (Met) – 15,61; орнитин (Orn) – 125,24; серин (Ser) – 16,35; таурин – (Tau) – 7,15; тирозин (Tyr) – 107,75; треонин (Thr) – 26,83; триптофан (Trp) – 32,95; фенилаланин (Phe) – 35,88.

Кроме того, экстракт содержит наибольшее количество цинка и йода. Особо отметим, что содержание ртути и свинца не превышает разрешённые нормы, а содержание селена находится на достаточном уровне для компенсации его концентрации в организме в селедефицитных регионах, к которым относится Забайкальский край.

Установлено, что внутрижелудочное введение испытуемого экстракта «Экстрапинус» в течение всего периода эксперимента в указанных объёмах не вызывало гибели животных. У крыс, получавших испытуемое средство, так же не отмечалось видимых признаков интоксикации. Животные опытных групп хорошо принимали корм, оставались активными, стул был. Исходя из этого и в соответствии с общепринятыми классификациями испытуемое средство можно отнести к группе практически не токсичных веществ [11; 13].

Полученные данные свидетельствуют, что экспериментальный иммобилизационный стресс сопровождается снижением концентрации АТФ на 49,0 % ($p<0,001$). При этом, относительно интактных животных, повышается уровень молочной и пировиноградной кислот в 2,1 раза ($p<0,001$) и 1,3 раза ($p<0,001$), соответственно. В 1,7 раза ($p<0,001$) выросло соотношение МК/ПВК. Данный показатель является основным лимитирующим фактором физической работоспособности. На фоне стресса наблюдалось снижение концентрации гликогена в печени на 23,3 % ($p = 0,002$), что свидетельствует об истощении углеводных запасов. Повышение концентрации МДА в гомогенате печени и сыворотке крови в 3,6 раза ($p<0,001$) и 3,4 раза ($p<0,001$), соответственно, и снижение ферментативных факторов антирадикальной защиты, каталазы сыворотки на 45,0 % ($p<0,001$) и СОД гомогената печени на 71,8 % ($p<0,001$) свидетельствуют об активации процессов свободнорадикального окисления. На 25,3 % ($p = 0,007$) уменьшается концентрация восстановленного глутатиона и возрастает в 1,6 раза ($p<0,001$) уровень гомоцистеина.

Применение экстракта «Экстрапинус» приводило к частичной нормализации исследуемых биохимических параметров.

Таблица

Влияние экстракта «Экстрапинус» на биохимические показатели белых крыс на фоне стресса

Показатели	*Интактная (n=10)*	*Контрольная (стресс+H_2O) (n = 12)*	*Опытная (стресс+ экстракт «Экстрапинус») (n=12)*
АТФ в гомогенате скелетной мышцы, мкмоль/мин/г белка	0,55±0,03	0,28±0,01	0,44±0,04*
Гликоген в гомогенате печени, г %	1012,0±76,8	778,1±52,7	1002,0±43,1
ПВК, ммоль/л	3,21±0,25	4,22±0,26	3,23±0,23*
МК, ммоль/л	48,51±3,63	102,09±4,50	67,07±4,13*
МК/ПВК	15,1±1,33	26,1±2,54	19,67±2,12*
МДА в сыворотке крови, мкмоль/л	3,72±0,36	12,81±0,85	5,68±0,85*
МДА в гомогенате печени, мкмоль/г ткани	2,73±0,15	9,81±0,46	5,23±0,34*
Каталаза сыворотки, мккат/л	1,91±0,09	1,05±0,05*	1,65 ± 0,14*

Окончание таблицы

Показатели	***Интактная (n=10)***	***Контрольная (стресс+H_2O) (n = 12)***	***Опытная (стресс+ экстракт «Экстрапинус») (n=12)***
СОД в гомогенате печени, усл.ед	2,45±0,12	0,69±0,04*	1,65±0,17*
Восстановленный глутатион (GSH) в гомогее нате печени, мкмоль/г ткани	6,45±0,47	4,82±0,41*	6,02±0,56*
Гомоцистеин сыворотки крови, мкмоль/л	5,72±1,35	9,11±2,09*	6,574±1,16
Примечание: достоверность различий по сравнению с данными животных контрольной группы при p<0,05			

При применении экстракта «Экстрапинус» возрастал энергетический потенциал клетки, о чём свидетельствует увеличение содержания АТФ и гликогена. В опытной группе, получавшей экстракт «Экстрапинус», снижалась относительно контрольной группы концентрация ПВК и МК.

Процессы свободнорадикального окисления при использовании экстракта «Экстрапинус» замедлялись, уровень МДА в сыворотке, гомогенате печени снижался на 59,8 % (p<0,001) и 44,9 % (p<0,001) относительно контрольной группы; на 31,6 % (p<0,001) и 45,9 % (p<0,001), соответственно. Уровень антирадикальной защиты возрастал при использовании экстракта «Экстрапинус». Так, активность каталазы была выше контрольной группы в 1,6 раза (p<0,001), 1,4 раза (p<0,001) и 1,2 (p = 0,008) раза, соответственно. Изменения активности СОД носили схожий характер.

При использовании экстракта «Экстрапинус» в гомогенате печени возрастало содержание восстановленного глутатиона, а изменения уровня гомоцистеина носили противоположный характер относительно указанных групп.

Исходя из изложенного, проведённое исследование доказало, что применение экстракта «Экстрапинус» снижает патологические нарушения, возникающие на фоне стресса. Учитывая отсутствие в рекомендованных дозах токсичности, возможно рекомендовать данный препарат для применения при стрессе.

Выводы. Экстракт «Экстрапинус» обладает следующими действиями:

1. Восстанавливает энергетический потенциал клеток при моделировании стресса.

2. Восстанавливает энергетический потенциал клеток, нормализует баланс в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита».

3. Поддерживает баланс тиолов в организме животных при стрессе.

Список литературы

1. Антонова Г. Ф., Тюкавкина Н. А. Водорастворимые вещества лиственницы и возможности их использования // Химия древесины. 1983. № 2. С. 89–96.

2. Антонова Г. Ф. Усов А. Н. Структура арабиногалактана древесины лиственницы сибирской (Larix sibirica Ledeb.) // Биоорганическая химия. 1984. Т. 10, № 12. С. 1664–1669.

3. Арифходжаев А. О. Галактаны и галактансодержащие полисахариды высших растений // Химия природных соединений. 2000. № 3. С. 185–197.

4. Бабкин В. А., Остроухова Л. А., Дьячкова С. Г. Безотходная комплексная переработка биомассы лиственниц сибирской и даурской // Химия в интересах устойчивого развития. 1997. № 5. С. 105–115.

5. Балтина Л. А., Сахаутдинова Г. М., Зарудий Ф. С. Синтез гликопептидов глицирризиновой кислоты и их иммуномодулирующее действие // Химико-фармацевтический журн. 1990. Т. 24, № 2. С. 119–121.

6. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Ленинград: МедГиз, 1963. 148 с.

7. Бузин Г. А., Джемухадзе К. М., Милешко Л. Ф. Определение белка в растениях с помощью амидо-чёрного // Физиология растений. 1982. Т. 24, вып. 1. С. 198–204.

8. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё. МЗ СССР. 11-е изд., доп. М.: Медицина, 1990. 400 с.

9. Дейл З., Мацек К., Янак Я. Жидкостная колоночная хроматография. М.: МедГиз, 1978. Т. 1. 554 с.

10. Кохан С. Т., Патеюк А. В. Исследование растительных адаптогенных средств при экспериментальной стафилококковой пневмонии // Сиб. мед. журн. 2014. № 8. С. 107–110.

11. Кохан С. Т., Патеюк А. В. Применение селенсодержащих средств на некоторые показатели иммунитета при экспериментальном гипоселенозе // Экология. Здоровье. Спорт: сб. ст. VI Междунар. науч.-практ. конф. Чита: ЗабГУ, 2015. С. 220–232.

12. Кохан С. Т., Патеюк А. В. Влияние селенодефицита на некоторые физиологические и морфофункциональные показатели крыс в эксперименте // Здоровье для всех: материалы VI Междунар. науч.-практ. конф.; Полесск. гос. ун-т. г. Пинск (23–24 апреля 2015 г.). С. 96–97.

13. Кохан С. Т., Патеюк А. В. Влияние растительных адаптогенов на общую физическую выносливость и энергетический обмен в эксперименте // Науч. ведомости. Сер. Медицина. Фармация. 2015. № 116. Вып. 31. С. 127–131.

References

1. Antonova G. F., Tyukavkina N. A. Vodorastvorimye veshchestva listvennitsy i vozmozhnosti ikh ispol'zovaniya // Khimiya drevesiny. 1983. № 2. S. 89–96.

2. Antonova G. F. Usov A. N. Struktura arabinogalaktana drevesiny listvennitsy sibirskoi (Larix sibirica Ledeb.) // Bioorganicheskaya khimiya. 1984. T. 10, № 12. S. 1664–1669.

3. Arifkhodzhaev A. O. Galaktany i galaktansoderzhashchie polisakharidy vysshikh rastenii // Khimiya prirodnykh soedinenii. 2000. № 3. S. 185–197.

4. Babkin V. A., Ostroukhova L. A., D'yachkova S. G. Bezotkhodnaya kompleksnaya pererabotka biomassy listvennits sibirskoi i daurskoi // Khimiya v interesakh ustoichivogo razvitiya. 1997. № 5. S. 105–115.

5. Baltina L. A., Sakhautdinova G. M., Zarudii F. S. Sintez glikopeptidov glitsirrizinovoi kisloty i ikh immunomoduliruyushchee deistvie // Khimiko-farmatsevticheskii zhurn. 1990. T. 24, № 2. S. 119–121.

6. Belen'kii M. L. Elementy kolichestvennoi otsenki farmakologicheskogo effekta. Leningrad: MedGiz, 1963. 148 s.

7. Buzin G. A., Dzhemukhadze K. M., Mileshko L. F. Opredelenie belka v rasteniyakh s pomoshch'yu amido-chernogo // Fiziologiya rastenii. 1982. T. 24, vyp. 1. S. 198–204.

8. Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR. Vyp. 2. Obshchie metody analiza. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e. MZ SSSR. 11-e izd., dop. M.: Meditsina, 1990. 400 s.

9. Deil Z., Matsek K., Yanak Ya. Zhidkostnaya kolonochnaya khromatografiya. M.: MedGiz, 1978. T. 1. 554 s.

10. Kokhan S. T., Pateyuk A. V. Issledovanie rastitel'nykh adaptogennykh sredstv pri eksperimental'noi stafilokokkovoi pnevmonii // Sib. med. zhurn. 2014. № 8. S. 107–110.

11. Kokhan S. T., Pateyuk A. V. Primenenie selensoderzhashchikh sredstv na nekotorye pokazateli immuniteta pri eksperimental'nom giposelenoze // Ekologiya. Zdorov'e. Sport: sb. st. VI Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. Chita: ZabGU, 2015. S. 220–232.

12. Kokhan S. T., Pateyuk A. V. Vliyanie selenodefitsita na nekotorye fiziologicheskie i morfofunktsional'nye pokazateli krys v eksperimente // Zdorov'e dlya vsekh: materialy VI Mezhdunar. nauch.-prakt. konf.; Polessk. Gos. un-t. g. Pinsk (23–24 aprelya 2015 g.). S. 96–97.

13. Kokhan S. T., Pateyuk A. V. Vliyanie rastitel'nykh adaptogenov na obshchuyu fizicheskuyu vynoslivost' i energeticheskii obmen v eksperimente // Nauch. vedomosti. Ser. Meditsina. Farmatsiya. 2015. № 116. Vyp. 31. S. 127–131.

Статья поступила в редакцию 19.12.2016; принята к публикации 13.01.2017

Received: December 19, 2016; accepted for publication: January 13, 2017

Библиографическое описание статьи

Кохан С. Т., Патеюк А. В. Влияние водного экстракта лиственницы сибирской на процессы перекисного окисления липидов при стрессе в эксперименте // Ученые записки ЗабГУ. Сер. Биологические науки. 2017. Т. 12, № 1. С. 154–159.

Reference to the article

Kokhan S. T., Pateyuk A. V. Influence of Siberian Larch Water Extract on Processes of Peroxide Oxidation of Lipids under Stress in an Experiment // Scholarly Notes of Transbaikal State University. Series Biological sciences. 2017. Vol. 12, No. 1. PP. 154–159.