

УДК 574+615.322+615.076.9

АНТИОКСИДАНТНЫЕ И ЭНЕРГОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ПОЛИПРЕНОЛОВ ИЗ ХВОИ ПИХТЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ФАКТОРОВ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО НЕБЛАГОПОЛУЧИЯ

© 2009 Е.М. Карпова¹, Н.К. Мазина¹, П.И. Цапок¹, Е.В. Новичков¹,
В.Г. Хоробрых¹, А.В. Кучин², И.В. Шешунов¹

¹ Кировская государственная медицинская академия

² Институт химии Коми НЦ УрО РАН

Статья получена 08.10.2009 г.

Полипrenoлы из хвои пихты обладают антиоксидантным и энергопротекторным действием в условиях моделирования факторов экологического неблагополучия. На основании результатов многофакторного анализа установлено, что способность к фармакологической коррекции разных патологических состояний проявляется у полипrenoлов в равной мере, как при неблагоприятных воздействиях физической природы, так и при их комбинации с повреждающим химическим фактором.

Ключевые слова: полипrenoлы, экологическое неблагополучие, многофакторный анализ

В настоящее время известно, что более 4000 известных нозологических форм заболеваний являются производными от экологического напряжения, вызванного естественными и антропогенными факторами [2]. Являясь неотъемлемой частью современного этапа развития общества, сочетанное и непрерывное влияние неблагоприятных воздействий различного происхождения обладает способностью суммировать свои негативные последствия для организма, что ведет к значительному снижению его адаптационных ресурсов. Кроме того, в условиях экологического неблагополучия многие предпатологические и патологические состояния вызваны дисрегуляцией энергетического обмена и чрезмерной активизацией процессов свободно радикального окисления, дополнительно усугубляющих течение заболевания [5, 19, 22]. В связи с этим поиск фармакологически активных соединений, способных корректировать состояния экопатологии, сочетающих адаптогенное действие с антиоксидантным и способностью регулировать энергетический обмен, является весьма актуальным. Перспективны в данном аспекте полипrenoлы (ПП) из хвои пихты, для которых уже известны многие виды фармакологической активности: адаптогенная, иммуномодулирующая, гепатопротекторная, противовирусная и другие [7, 12, 18]. Также для ПП установлен

антирадикальный эффект в отношении алкильных радикалов [11]. На основании этого предполагается, что реализация перечисленных видов фармакологической активности ПП может осуществляться за счет их антиоксидантных свойств и способности оказывать энергопротекторный эффект - защитное действие на системы энергопродукции для поддержания активности процессов энергетического обмена в соответствии с актуальными потребностями организма в зависимости от условий внешней среды.

Цель работы состояла в комплексном изучении антиоксидантных и энергопротекторных свойств ПП из хвои пихты при моделировании комбинаций неблагоприятных факторов в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводились на беспородных половозрелых крысах-самцах весом 200 ± 15 г. по 5 животных в группе сравнения. Сумму ПП, выделенную из нейтральной части эмульсионного экстракта хвои пихты [17], вводили внутривещеводно ежедневно за 5 суток до воздействия в максимально эффективной адаптогенной дозе 5 мг/кг [12]. Комбинацию неблагоприятных факторов имитировали путем острого охлаждения при ограничении подвижности [10] с последующей предельной физической нагрузкой в тесте принудительного плавания (ХП) [4]. В качестве химического фактора на фоне охлаждения и принудительного плавания осуществляли токсическое поражение печени по типу острого гепатита (ТХП) [16], являющееся общепринятой моделью свободно радикальной (СР) патологии.

Прооксидантно-антиоксидантный статус крыс оценивали по интенсивности СР-процессов в плазме крови крыс (I_{\max} - максимальной вспышке Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции и светосумме свечения за 30

Карпова Евгения Михайловна, научный сотрудник.

E-mail: karpova@kirovvgtm.ru

Мазина Надежда Константиновна, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой фармакологии

Цапок Петр Иванович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой медицинской биохимии

Новичков Евгений Владимирович, кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой патологической анатомии

Хоробрых Василий Геннадьевич, ассистент кафедры патологической анатомии

Кучин Александр Васильевич, доктор химических наук, директор

Шешунов Игорь Вячеславович, доктор медицинских наук, ректор

сек. (Σ_{30}) [23], ее антирадикальной активности ($АРА=I_{\max}/\Sigma_{30}$) [13, 23], содержанию малонового диальдегида (МДА) [4], активности каталазы крови ($K_{кр}$), сердца (K_c), печени ($K_{п}$) и почки ($K_{пчк}$) [24].

Энергетический статус лимфоцитов периферической крови изучали цитохимически по активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) [20], оценивая суммарную активность СДГ (Q) в 50 клетках [3] и среднюю площадь депозитов СДГ-реакции (S), характеризующих структурно-функциональную организацию систем энергопродукции лимфоцитов в виде митохондриального ретикулула [9]. Процессы окисления энергетических субстратов в тканях внутренних органов (сердца, печени и почки) изучали с помощью закрытого кислородного датчика гальванического типа [14]. Градации метаболических состояниях митохондрий (МХ) имитировали в виде цикла «эндогенное дыхание → максимальная активность СДГ» [15] и определяли скорости поглощения O_2 при окислении эндогенных субстратов ($V_э$) и экзогенной янтарной кислоты ($V_я$) для каждого вида ткани. По коэффициенту стимуляции дыхания (СД) – соотношению скоростей дыхания в момент перехода ($V_я/V_э$) исследовали регулирующее действие экзогенного субстрата на активность «нативных» МХ тканей. Комплексную оценку фармакологической активности ПП осуществляли с использованием многофакторного анализа методом главных компонент (ГК), реализованного в программе STATISTICA 6.0 [8, 21].

Результаты и их обсуждение. Для оценки антиоксидантных свойств ПП по совокупности разнокачественных показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса массивы данных, состоящие из значений показателей I_{\max} , Σ_{30} , АРА, МДА, $K_{кр}$, K_c , $K_{п}$ и $K_{пчк}$, формировали с выделением входящих группирующих факторов «Воздействие» и «Защита», формализовано отражающих действие неблагоприятных факторов на данную гомеостатическую систему и эффективность фармакологической коррекции последствий моделируемых воздействий. После факторизации матриц множественных корреляций выделилось 3 ГК, поглощающих более 70% общей дисперсии массива, что соответствовало критерию адекватности математико-статистической модели [6]. Об информативности показателей, диапазоне и направлении взаимодействия группирующих факторов судили по величинам их нагрузок на ведущую ГК (F_1), вследствие более значимого ее вклада в общую изменчивость (46%). Все показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса (кроме $K_{кр}$) отличались высокой информативностью, поскольку оказывали значимые (более 0,5) факторные нагрузки на F_1 [8]. При этом показатели I_{\max} , Σ_{30} , МДА в большей степени были ассоциированы с фактором «Воз-

действие», а показатели АРА, K_c , $K_{п}$ и $K_{пчк}$ – с фактором «Защита» (рис. 1), что указывало на активизацию прооксидантной системы в ответ на неблагоприятные воздействия и усиление антиоксидантной защиты организма под влиянием ПП. Наряду с этим антиоксидантный эффект ПП, заключающийся в мобилизации каталазы тканей сердца, печени и почки, повышении АРА плазмы крови и противодействии развитию негативных последствий в прооксидантно-антиоксидантной системе в виде чрезмерной инициации СР-процессов и перекисного окисления липидов неблагоприятными воздействиями, характеризовала противоположная направленность формализованных векторов «Защита» и «Воздействие» относительно ведущей F_1 .

Формализованное представление животных по совокупности показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса в виде точек в координатах ГК не привело к четкому разграничению всех групп сравнения. Однако сообщества точек, представляющих крыс контрольных групп (ХП и ТХП), существенно отдалялись от интактной группы в соответствии с направлением вектора «Воздействие» и располагались в области отрицательных проекций по оси F_1 , что явилось подтверждением негативных изменений в данной системе организма в результате действия комбинаций неблагоприятных факторов. Под влиянием ПП сообщества точек, представляющие соответствующие группы сравнения (ХП ПП и ТХП ПП), «продвигались» по направлению вектора «Защита» в положительную область вдоль F_1 к интактной группе. Совпадение локализации «групп» ХП ПП и Инт, разграничение расположения «группы» ТХП ПП от соответствующей контрольной «группы» ТХП с «возвращением» к сообществу точек интактной группы отражает, на наш взгляд, антиоксидантные свойства ПП в равной степени эффективные при обеих комбинациях неблагоприятных воздействий.

Значительное «продвижение» сообщества точек биомоделей с введением ПП в состоянии «нормы» (И ПП) относительно интактной группы вдоль оси F_2 (в ее положительную область), указывает на перестройку прооксидантно-антиоксидантной системы, которая при действии неблагоприятных факторов способствует преодолению гиперактивации СР-процессов и ее последствий в виде перекисного окисления липидов. По нашему мнению, установленное позитивное влияние ПП на ключевые компоненты антиоксидантной защиты одновременно в разных системах (крови, сердце, печени, почке) на фоне неблагоприятных факторов свидетельствует о множественности проявления антиоксидантных свойств данного вещества.

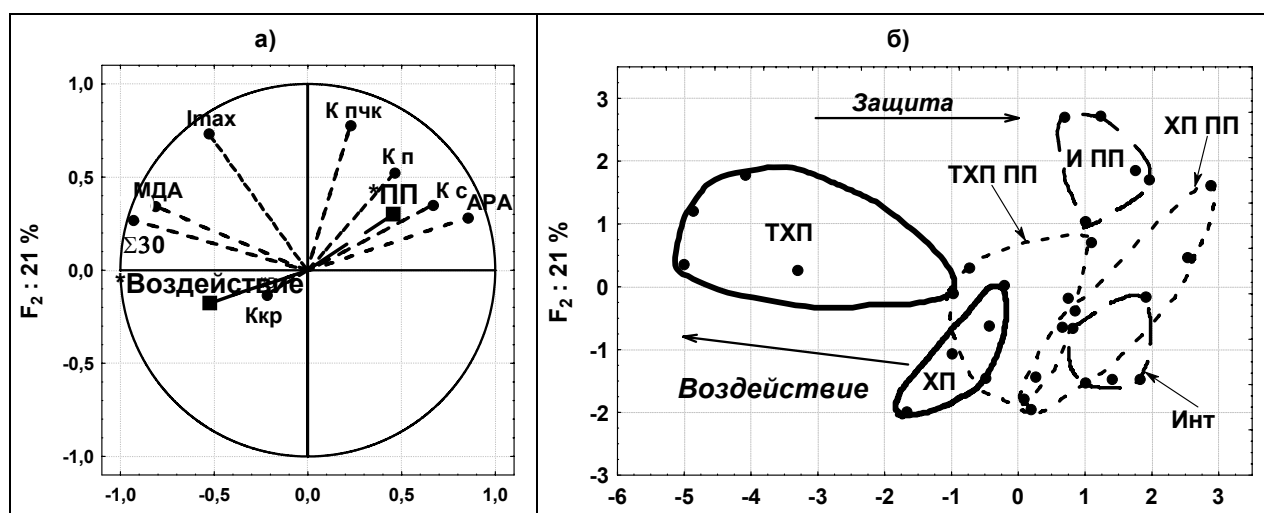


Рис. 1. Проявление антиоксидантного действия ПП по совокупности показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса.

Обозначения: а) факторные нагрузки показателей-откликов и входящих факторов,

F_{1-2} – ГК, • – параметры-отклики, ■ – входящие факторы;

б) дифференциация групп сравнения в координатах F_1 и F_2 . Маркировка групп сравнения: Инт – интактные животные; ХП – контроль (группа охлаждение-плавание); ТХП – контроль (группа токсикант-холод-плавание); для групп с профилактическим введением ПП первые буквы (ХП, ТХП) указывают вид неблагоприятного воздействия или его отсутствие (И); точки представляют животных в группах сравнения; стрелками указаны векторы группирующих факторов

С целью изучения влияния ПП на энергетический обмен массивы, содержащие значения показателей Q , S , $V_{эс}$, $V_{яс}$, $СДс$, $V_{эп}$, $V_{яп}$, $СДп$, $V_{эпчк}$, $V_{япчк}$ и $СДпчк$ группировали по типу комбинации неблагоприятных факторов (ХП или ТХП). При обеих комбинациях первые три ГК удовлетворяли критерию адекватности математико-статистической модели [6]. Однако вследствие невыполнения условия $F_1 > F_2 + F_3$ не удалось определить ведущую ГК, поэтому каждый входящий группирующий фактор был ассоциирован с определенной ГК: «Защита» - с

F_1 , «Воздействие» с F_2 , согласно величинам их факторных нагрузок на F_1 и F_2 (рис. 2). При сочетании острого охлаждения с предельной физической нагрузкой наименее информативным показателем оказался показатель $V_{яс}$ (рис. 2а), а при том же сочетании неблагоприятных воздействий на фоне острого гепатита – показатель S (рис. 2б), что свидетельствует о менее значимом вкладе соответствующих процессов при формировании ответной реакции систем энергообеспечения на моделируемые воздействия и профилактическое введение ПП.

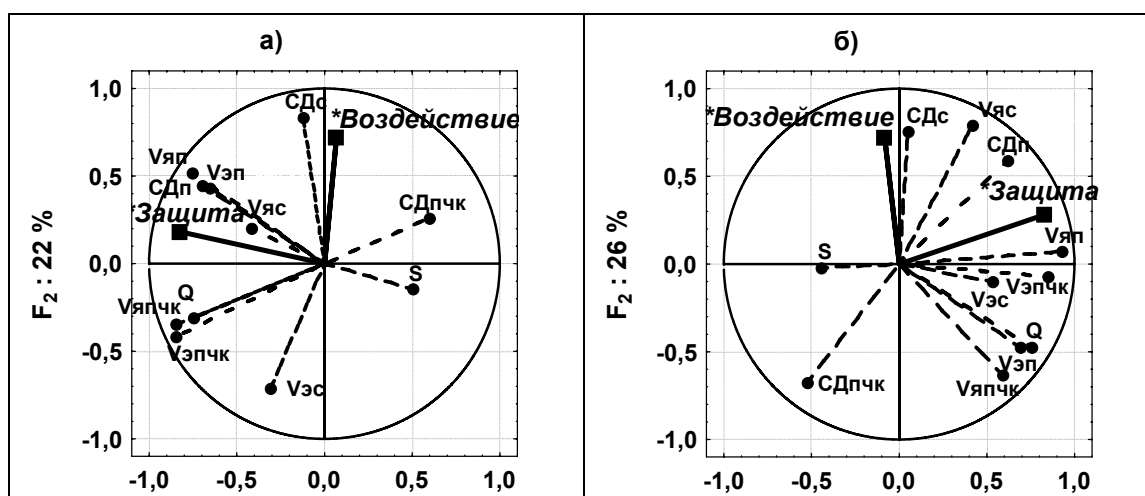


Рис. 2. Проявление энергопротекторного действия ПП по совокупности показателей энергетического статуса лимфоцитов и сукцинатаксоназной активности тканей внутренних органов при неблагоприятных воздействиях физической природы (а) и их сочетании с химическим фактором (б). Обозначения – как на рис. 1.

Исходя из реципрокных взаимоотношений факторов «Воздействие» и «Защита», ПП оказывают защитное действие на системы энергопродукции (энергопротекторное) с различной локализацией (МХ иммунокомпетентных клеток, тканей сердца, печени и почки). При этом выраженность энергопротекторного действия ПП не зависит от комбинации неблагоприятных факторов, поскольку в обоих случаях входящие факторы оказывают одинаковые факторные нагрузки на ГК, ассоциированные с «Воздействием» и «Защитой» (таблица).

Таблица. Сопоставление силы энергопротекторного действия ПП в зависимости от комбинаций неблагоприятных воздействий

Вид комбинации неблагоприятных воздействий	Модули проекций входящих факторов	
	абсолютные значения проекции «Воздействие» на F ₂	абсолютные значения проекции «Защита» на F ₁
ХП	0,72	0,83
ТХП	0,72	0,83

Кроме того, формализованная «сила» энергопротекторного эффекта ПП, воплощенная в отклике показателей функциональной активности МХ лимфоцитов и тканей внутренних органов, на 15% превышала «силу» неблагоприятных воздействий, что следует из соотношения значений проекций фактора «Защита» на F₁ и фактора «Воздействие» на F₂. Следовательно, ПП обладают способностью полностью нивелировать негативные последствия для процессов энергетического обмена, как при неблагоприятных воздействиях физической природы, так и при их комбинации с патогенным фактором.

Выводы: на основании результатов многофакторного анализа показателей прооксидантно-антиоксидантной системы и энергетического обмена в крови и тканях внутренних органов экспериментальных животных показано, что ПП сочетают антиоксидантные и энергопротекторные свойства. Благодаря этому ПП способны в равной мере эффективно нивелировать негативные последствия неблагоприятных воздействий физической и химической природы. Установленный тип фармакологической активности позволяет рекомендовать ПП в качестве фармацевтических субстанций для разработки лекарственных форм лечебно-профилактических средств коррекции экологического неблагополучия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Андреева, Л.И.* Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / *Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кимкун* // Лаб. дело. – 1988. – №11. – С. 41-43.
2. *Афонин, Д.Г.* Особенности адаптации организма человека к техногенным факторам современного мегаполиса / *Д.Г. Афонин, М.В. Рагульская* // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2003. – №5. – С. 29-40.
3. *Василев, С.Ц.* Возможности цитоморфометрического анализа лимфоцитов в диагностике и лечении митохондриальных кардиомиопатий / *С.Ц. Василев, С.В. Петричук, И.А. Себелева* и др. // Митохондрии в патологии. Материалы всероссийского совещания. – Пущино, 2001. – С. 32-35.
4. *Волчегорский, И.А.* Экспериментальная оценка адаптивных реакций организма / *И.А. Волчегорский, И.И. Долгушин, О.Л. Колесников, В.Э. Цейликман*. – Челябинск, 2000. – 167 с.
5. *Величковский, Б.Т.* О патогенетическом направлении изучения влияния факторов окружающей среды на здоровье населения // Вестн. РАМН. – 2003. – №3. – С. 3-12.
6. *Григорьев, С.Г.* Многомерное математико-статистическое моделирование сложных медицинских систем: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2003. – 42 с.
7. *Деева, А.В.* Фоспренил-противовирусный препарат широкого спектра действия / *А.В. Деева, С.В. Ожерелков, А.Ю. Новиков* и др. // Ветеринария. – 1998. – №3. – С. 15-21.
8. *Жуковская, В.М.* Факторный анализ в социально-экономических исследованиях / *В.М. Жуковская, И.Б. Мучник*. – М.: Статистика, 1976. – 151 с.
9. *Жукоцкий, А.В.* О проблеме объективизации цитологической диагностики с помощью оптоэлектронных систем / *А.В. Жукоцкий, А.С. Строгалов, Э.М. Коган* и др. // Интеллектуальные системы. – 1998. – №3, вып. 3-4. – С. 233-259.
10. *Иванов, К.П.* Основы энергетики организма: Теоретические и практические аспекты. Т.3. Современные проблемы, загадки и парадоксы регуляции энергетического баланса. – СПб.: Наука, 2001. – 278 с.
11. *Карпицкий, В.И.* Состав и антиоксидантная активность ацетатов полипренолов, выделенных из древесной зелени хвойных пород / *В.И. Карпицкий, Л.Г. Карпицкая* // Материалы IV Всероссийской конференции «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». – Барнаул, 2009. – С. 124-125.
12. *Карпова, Е.М.* Оценка адаптивных свойств экстрактивных веществ древесной зелени пихты по параметрам функциональной активности гомеостатических систем *in vivo* и *in vitro* / *Е.М. Карпова, Н.К. Мазина, О.Г. Новоселова* и др. // Вятский медицинский вестник. – 2008. – №1. – С. 35-41.
13. *Клебанов, Г.И.* Антиоксидантная активность сыворотки крови / *Г.И. Клебанов, Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова* и др. // Вестн. РАМН. – 1999. – №2. – С. 15-22.
14. *Коваленко, Е.А.* Полярографическое определение кислорода в организме / *Е.А. Коваленко, В.А. Березовский, И.М. Эпштейн*. – М.: Медицина, 1975. – 231 с.

15. Кондрашова, М.Н. Обследование состояния выделенных митохондрий / М.Н. Кондрашова, А.А. Анащенко // В кн.: Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. – М.: Наука, 1973. – С. 106-129.
16. Косых, А.А. Соединительная ткань печени в норме, при хроническом гепатите и циррозе в условиях регенерации: Дис. ... д-ра мед. наук. - Киров, 1992. – 475 с.
17. Кучин А.В., Карманова Л.П., Хуршкайнен Т.В. Способ выделения биологически активной суммы кислот из древесной зелени пихты. Патент РФ № 2161149. Бюлл. изобрет. - 2000. – №36.
18. Лаптева, Е.Н. Специфическая активность полипренольного препарата "Ропрен" при токсическом поражении печени в эксперименте / Е.Н. Лаптева, В.И. Рощин, В.С. Султанов // Клиническое питание. – 2007. - № 3. – С. 28-32.
19. Меньщикова, Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. - М.: «Слово», 2006. – 556 с.
20. Нарциссов, Р.П. Цитохимическая экспертиза качества жизни – вчера, сегодня, завтра / Р.П. Нарциссов, С.В. Петричук, З.Н. Духова и др. // Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности и сельском хозяйстве.–Пушино, 1997. – С. 155-164.
21. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002.–312 с.
22. Хазанов, В.А. Регуляторы энергетического обмена – новый класс препаратов //Регуляторы энергетического обмена. Материалы симпозиума X Российского национального конгресса «Человек и лекарство».–Томск. – 2003. – С. 3-18.
23. Цапок, П.И. Хемилюминесцентный метод определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови / П.И. Цапок, А.А. Галкин // Инф. листок № 175-98 Кировского ЦНТИ. - Киров. – 1998. – 3 с.
24. Lessler, M.A. Adaptation of polarographic oxygen sensors for biochemical assays // Methods of biochemical analysis. – 1980. – V. 28. – P. 175-199.

ANTIOXIDANT AND ENERGOPROTECTIVE PROPERTIES OF POLYPRENOLS FROM FIR NEEDLES AT MODELLING FACTORS OF ECOLOGICAL TROUBLE

© 2009 E.M. Karpova¹, N.K. Mazina¹, P.I. Tsapok¹, E.V. Novichkov¹,
V.G. Horobryh¹, A.V. Kuchin², I.V. Sheshunov¹

¹ Kirov State Medical Academy

² Institute for Chemistry of Komi SC UB RAS

Article is received 10/8/2009

Polyprenols from fir needles possess antioxidant and energyprotective action in conditions of modelling factors of ecological trouble. On the basis of results of the multifactorial analysis it is established, that ability to pharmacological correction of different pathological conditions is shown at polyprenols in equal measure, both at adverse influences of the physical nature, and at their combination with the damaging chemical factor.

Key words: *polyprenols, ecological trouble, multifactorial analysis*

Elena Karpova, Research Fellow. E-mail: karpova@kirovgma.ru

Nadezhda Mazina, Doctor of Medicine, Head of the Pharmacology

Department

Petr Tsapok, Doctor of Medicine, Head of the Medical Biochemistry

Department

Evgeniy Novichkov, Candidate of Medicine, Head of the

Pathological Anatomy Department

Vasilij Horobryh, Assistant at the Pathological Anatomy

Department

Alexander Kuchin, Doctor of Chemistry, Director

Igor Sheshunov, Doctor of Medicine, Rector