

Влияние экстракта лиственницы сибирской на процессы перекисного окисления липидов в эксперименте

Патеюк Андрей Владимирович

Забайкальский государственный университет, ведущий научный сотрудник научно-образовательного центра «Экология и здоровье человека», доктор медицинских наук, профессор, Россия

Кохан Сергей Тихонович

Забайкальский государственный университет, заведующий научно-образовательным центром «Экология и здоровье человека», кандидат медицинских наук, доцент, Россия

Кривошеев Сергей Геннадьевич

Общество с ограниченной ответственностью «Таежный», директор, Россия

Аннотация. В современных условиях в Забайкальском крае деревообработка является одной из основных отраслей производства. В связи большими площадями лесозаготовок остро стоит вопрос о переработке и использовании отходов непосредственно на месте. В статье приводятся результаты исследования активности водного экстракта из опилок лиственницы сибирской «Экстрапинус» на энергетический обмен и процессы перекисного окисления липидов на фоне иммобилизационного стресса в эксперименте. Приведенные в статье данные доказывают, что применение экстракта «Экстрапинус» снижает патологические нарушения, возникающие на фоне стресса. Так, экстракт «Экстрапинус» восстанавливает энергетический потенциал клеток при моделировании стресса, восстанавливает энергетический потенциал клеток, нормализует баланс в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» и поддерживает баланс тиолов организме животного при стрессе. Учитывая отсутствие, в рекомендованных дозах, токсичности возможно рекомендовать их применение при стрессе.

Ключевые слова: стресс, перекисное окисление липидов, лиственница сибирская.

Введение

В настоящее время стоит вопрос об утилизации различных отходов. В Сибирском регионе активно развиваются производства деревообработки. Отходами такого производства являются опилки. Часто их прессуют 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. Современных инноваций в настоящее время захватывают различные отрасли науки, в том числе и развитие современных биотехнологий. Осуществляется синтез новых биопрепаратов, изучение состава и свойств которых вызывают интерес, как в промышленности, так и в медицине [20, 21].

На сегодняшний день широко рекламируются и используются различные биодобавки, биостимуляторы, которые эффективны как для лечения различных заболеваний, так и в качестве профилактических средств. В составе таких препаратов определяются такие вещества, как витамины, микроэлементы, интерфероны, интерлейкины и пептидные компоненты. Это делает возможным применение данных препаратов в таких отраслях медицины как хирургия и онкология. Так, использование биопрепаратов при различных онкологических заболеваниях тормозит процессы метастазирования и блокирует питание опухоли [17, 18, 21-26].

Получение препаратов из растительного сырья известно давно и до сих пор пользуются успехом при лечении различных заболеваний [2, 19, 20].

В современном мире 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. Курсовой прием адаптогенов ведет к перестройке обмена веществ, под их влиянием наблюдается ослабление негативных биохимических и функциональных нарушений углеводного, белкового и липидного обмена; повышается утилизация глюкозы клетками, мобилизация липидных депо и усиление использования липидов в качестве субстратов окисления; предупреждается истощение гипофиз-адреналовой системы при экстремальных воздействиях [3-8, 12, 13, 24]. Исходя из вышесказанного мы решили изучить влияние водного экстракта из лиственницы сибирской «Экстрапинус» на энергетический обмен и процессы перекисного окисления липидов.

Материалы и методы

Получение экстракта «Экстрапинус». Опилки лиственницы сибирской, полученные в процессе деревообработки, промывали проточной водой, затем помещали в емкость из нержавеющей стали объемом 200 литров и заливали профильтрованной водой. Емкость герметично закрывали и нагревали до 90 °С. Такую температуру поддерживали в течение 48 часов. После чего, экстракт охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через тканевой фильтр. Полученный экстракт разливали в стеклянные емкости объемом 1 литр и плотно закрывали. Хранили в темном, прохладном месте. В течение 1 года хранения развития микрофлоры в экстракте не наблюдалось, что дополнительно подтверждалось микробиологическим посевом. 10 мл образца (Экстрапинус) вносят в 90 мл питательной среды (лактозный бульон. Состав: пептон ферментативный сухой – 8 г, лактоза – 5 г, вода дистиллированная – 1000 мл, рН после стерилизации 6,9 + 0,1). Инкубируют при температуре (32.5 + 2.5)°С в течение 5 часов. При отсутствии роста на среде №3 (среда прозрачная, цвет не изменился) считают, что в лекарственном средстве не содержатся бактерии [10].

Стресс у крыс вызывали путем иммобилизации в течение 24 часов. Крысы 1-ой группы употребляли «Экстрапинус по 5 мл/кг массы экстракт «Экстрапинус» в течение 1 раз в день в течение 14-ти суток. Животные второй группы получали эквивалентное количество воды [13].

После этого крыс под эфирным наркозом декапитировали и определяли: содержание АТФ в гомогенате скелетной мышцы, в сыворотке крови – концентрацию молочной и пировиноградной кислот с расчетом окислительно-восстановительного потенциала по отношению МК/ПВК [10]; в гомогенате печени – содержание гликогена [9].

Все процедуры эксперимента соответствовали требованиям Международных правил гуманного отношения к животным, отраженным в Санитарных правилах по оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) [1, 2, 11]. Все работы проведены в соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [14].

Об интенсивности СРО в сыворотке крови и гомогенате тканей судили по приросту уровня малонового диальдегида (МДА), который определяли в цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой по методу И. Д.Стальной [9].

Оценку активности ферментов антирадикальной защиты проводили спектрофотометрическими методами. Активность супероксиддисмутазы (СОД) оценивали по ингибированию скорости восстановления нитросинего тетразолия в неэнзиматической системе феназинметасульфата и НАДН при 540 нм по методу Коробейниковой Э.Н. (1989); активность каталазы определяли в цветной реакции образования комплекса пероксида водорода с молибдатом аммония, поглощающего при 410 нм по методу М. А. Королук, Л. И. Ивановой, И. Г. Майоровой [9].

Концентрацию восстановленного глутатиона определяли по образованию тионитрофенильного аниона, имеющего максимум поглощения при длине волны 412 нм, в реакции с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой по методике G. L. Ellman [9].

Статистическую обработку материалов осуществляли на ПК, результаты абсолютных значений по всем параметрам представляли в виде среднего \pm среднеквадратичное отклонения от среднего ($M \pm m$) [14].

Результаты исследования

В серии предварительных экспериментов была определена острая токсичность экстракта «Экстрапинус». Опыты проведены на белых беспородных крысах обоего пола массой 160-180 г. Острую токсичность экстракта «Экстрапинус» определяли по методу Кербера [13, 15] при его однократном внутрижелудочном введении в объемах от 1,0 до 5,0 мл/кг массы животного.

Животные контрольных групп получали эквивалентное количество дистиллированной воды. Наблюдение за животными осуществляли в течение 14 дней с момента введения испытуемого средства. В течение всего периода эксперимента наблюдали за общим состоянием и поведением живот-

ных, регистрировали видимые признаки интоксикации и количество погибших животных с осмотром внутренних органов и гистологическим исследованием жизненно важных органов при гибели животных.

Установлено, что внутрижелудочное введение испытуемой экстракта «Экстрапинус» в указанных объемах не вызывало гибели животных в течение всего периода наблюдения. Кроме этого, у крыс, получавших испытуемое средство, не отмечалось видимых признаков интоксикации; поведенческие реакции и общее состояние не отличалось от такового у животных контрольной группы; животные опытных групп оставались активными, хорошо принимали корм, стул был нормальным в течение всего периода наблюдения. Полученные данные позволяют отнести испытуемое средство к группе практически не токсичных веществ в соответствии с общепринятыми классификациями [2, 11, 14].

Как следует из данных, приведенных в табл. 1, иммобилизационный стресс в группе контроля сопровождается снижением концентрации АТФ на 49,0% и повышением уровня пировиноградной и молочной кислот в 1,3 раза и 2,1 раза соответственно относительно интактных животных. Отношение МК/ПВК так же выросло в 1,7 раза, что является основным лимитирующим фактором физической работоспособности.

Таблица 1 – Влияние экстракта «Экстрапинус» на биохимические показатели белых крыс на фоне стресса

Показатели	Группы подопытных крыс		
	интактная (n=10)	контрольная (стресс+H2O) (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*
СОД в гомогенате печени, усл. ед	2,45±0,12	0,69±0,04*	1,65±0,17*
Восстановленный глутатион (GSH) в гомогенате 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 $p < 0,05$.

Кроме этого, на фоне стресса наблюдалось истощение углеводных запасов, на что указывает снижение концентрации гликогена в печени на 23,3%, а так же активация процессов свободнорадикального окисления: повышение концентрации МДА в сыворотке крови и гомогенате печени в 3,4 раза и 3,6 раза соответственно и снижения ферментативных факторов антирадикальной защиты, каталазы сыворотки на 45,0% и Сод гомогената печени на 71,8%. Концентрация восстановленного глутатиона на фоне стресса уменьшается на 25,3%, при этом уровень гомоцистеина возрастает в 1,6 раза.

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

Энергетический потенциал клетки возрастал за счет увеличения АТФ и гликогена, так при применении экстракта «Экстрапинус» их уровень был выше на 71,43% и 29,6% соответственно относительно контрольной группы; на 23,1% и 11,0% соответственно.

Концентрация ПВК и МК в опытной группе получавшей экстракт «Экстрапинус» значительно снижались относительно контрольной группы. В тоже время соотношение МК/ПВК значительно снижалось только относительно контрольной группы.

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

Содержания восстановленного глутатиона в гомогенате печени при использовании экстракта «Экстрапинус» возрастало относительно контрольных животных, а изменения уровня гомоцистеина носили противоположный характер относительно указанных групп.

Исходя из выше изложенного, проведенное исследование доказало, что применение экстракта «Экстрапинус» снижает патологические нарушения, возникающие на фоне стресса. Учитывая отсутствие, в рекомендованных дозах, токсичности возможно рекомендовать их применение при стрессе.

Выводы

По результатам исследования установлено, что:

1. Экстракт «Экстрапинус» не обладает токсическим действием в дозе 5,0 мл/кг массы животного.

2. Экстракт «Экстрапинус» восстанавливает энергетический потенциал клеток, нормализует баланс в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» в организме животного при иммобилизационном стрессе.

Перечень использованных источников

1. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. – Ленинград, 1963. – 148 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIII издание. – Москва : ФЭМБ, 2015. – 1470 с.
3. Кохан С. Т. Средство, обладающее адаптогенной активностью : патент № 25206090 / С. Т. Кохан, А. В. Патеюк, Л. Шантанова ; зарег. в Государственном реестре Изобретений Российской Федерации 10.02.2014.
4. Кохан С. Т. Исследование растительных адаптогенных средств при экспериментальной стафилококковой пневмонии / С. Т. Кохан, А. В. Патеюк // Сибирский медицинский журнал. – 2014. – № 8. – С. 107-110.
5. Кохан С. Т. Применение селеносодержащих средств на некоторые показатели иммунитета при экспериментальном гипоселенозе / С. Т. Кохан, А. В. Патеюк // Экология. Здоровье. Спорт : сборник статей VI Международной научно-практической конференции. – Чита : ЗабГУ, 2015. – С. 220-232.
6. Кохан С. Т. Влияние селенодефицита на некоторые физиологические и морфофункциональные показатели крыс в эксперименте / С. Т. Кохан, А. В. Патеюк // Здоровье для всех : материалы VI Международной научно-практической конференции, г. Пинск, 23-24 апреля, 2015. – Пинск : Полесский государственный университет, 2015. – С. 96-97.
7. Кохан С. Т. Влияние растительных адаптогенов на общую физическую выносливость и энергетический обмен в эксперименте / С. Т. Кохан, А. В. Патеюк // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия «Медицина. Фармация». – 2015. – Вып. 31. – № 116(223). – С. 127-131.
8. Kokhan S. T. Stress protective action of vegetable adaptogens in experiment / S. Kokhan, A. Pateyuk, L. Shantalova // Current situation and future trends of drug research and development from natural sources : International scientific conference, Mongolia, 11 September 2015. – Ulaanbaatar, 2015. – P. 120.
9. Долгов В. В. Лабораторная диагностика / В. В. Долгов, В. В. Меньшиков. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 928 с.
10. Методы микробиологического контроля лекарственных средств // ГФХ1. – Вып. 2. – 2002. – 187 с.
11. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище : метод. указания. – Москва, 1999. – 86 с.
12. Патеюк А. В. Экспериментальный гипоселеноз и некоторые показатели иммунитета / А. В. Патеюк, С. Т. Кохан // Развитие традиционной медицины в России : сборник научных статей IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 25-летию Центра восточной медицины. – Улан-Удэ, 2014. – С. 306-308.
13. Патеюк А. В. Влияние фитопрепарата «Экстрапинус» на динамику развития и заживления стрессовых язв у экспериментальных животных / А. В. Патеюк [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2015 – № 9. – Ч. 3. – С. 458-460.

14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р. У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2005. – 455 с.
15. Сергиенко В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – Москва : Медицина, 2000. – 236 с.
16. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К. К. Сидоров // Токсикология новых промышленных химических веществ. – 1973. – № 45. – С. 47-51.
17. Фейгин Г. А. Кровотечения и тромбозы в практической оториноларингологии и в хирургии головы и шеи / Г. А. Фейгин, Б. И. Кузник, В. Г. Стуров. – Чита : Экспресс-Издательство, 2015. – 480 с.
18. Хавинсон В. Х. Пептидные геропротекторы – эпигенетические регуляторы физиологических функций организма / В. Х. Хавинсон, Б. И. Кузник, Г. А. Рыжак. – Санкт-Петербург : Изд-во РГПУ им. А. И. Герцена, 2014. – 271 с.
19. Хавинсон В. Х. Короткие пептиды и регулятор длины теломер гормон ирисин / В. Х. Хавинсон [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – №9. – С. 332-336.
20. Чхве Т. Лекарственные растения / Т. Чхве ; пер. с корейского. – Москва : Медицина, 1987. – 418 с.
21. Энциклопедия фитотерапии. Травы жизни профессора Корсуна. – Москва : Центрполиграф, 2007. – 443 с.
22. Khavinson V. Kh. Peptide Bioregulators: A new Class of Geroprotectors, Report 2. The Results of Clinical Trials / V. Kh. Khavinson, B. I. Kuznik, G. A. Ryzhak // Advances in gerontology. – 2014. – Vol. 4. – № 4. – P. 346-361.
23. Khavinson V. Kh. Peptides and CCL11 and HMGB1 as Molecular Markers of Aging: Literature Review and Own Data / V. Kh. Khavinson [at al.] // Advances in Gerontology. – 2015. – Vol. 5. – № 3. – P. 133-140.
24. Kokhan S. T. Recovery of immune defense capacity in experimental model of hyposelenosis using selenium containing medications / S. T. Kokhan, A. V. Pateuyk // Current advances in microbiology and immunology, Ulaanbaatar (Mongolia), 19-21 June 2014. – Ulaanbaatar, 2014. – P. 32.
25. Laemmli U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Bacteriophage / U. K. Laemmli // Nature. – 1970. – Vol. 227. – № 4. – P. 680-685.
26. Lowry O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry // The Journal of Biological Chemistry. – 1951. – Vol. 193. – № 1. – P. 265-275.

© А. В. Патеюк, С. Т. Кохан, С. Г. Кривошеев

Influence of the Siberian larch extract on the processes of peroxide oxidation of lipids in experiment

Pateyuk Andrey

Transbaikal State University, leading Researcher of Scientific and Educational Center "Ecology and Health of the Person", Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Russia

Kokhan Sergey

Transbaikal State University, Head of Scientific and Educational Center "Ecology and Health of the Person", PhD in Medical Sciences, Associate Professor, Russia

Krivosheyev Sergey

Tayezhny Ltd., Director, Russia

Abstract. In modern conditions wood processing is one of the primary branches of production in Transbaikal region. In connection with big squares of logging the question of processing and utilizing waste products directly on the spot is particularly acute. We researched the activity of water extract from sawdust of Siberian larch "Ekstrapinus" on the power exchange and processes of peroxide oxidation of lipids against immobilized stress in experiment.

The data provided in the article prove that the use of Ekstrapinus extract reduces the pathological violations arising under stress. So, Ekstrapinus extract restores energy potential of cages when modeling stress, restores energy potential of cells, normalizes balance in the system "peroxide oxidation of lipids – antioxidant protection" and supports the balance of tiol in an animal organism in the state of stress. Considering absence of toxicity in the recommended doses, it is possible to recommend their application under stress.

Keywords: stress, peroxide oxidation of lipids, Siberian larch.

© A. Pateyuk, S. Kokhan, S. Krivosheyev