

Р.Н.Мустафин¹, И.В.Шилова², Н.И.Суслов², А.А.Бакибаев¹

¹Томский политехнический университет, Россия;

²НИИ фармакологии СО РАМН, Томск, Россия

E-mail: rustamustaf@sibmail.com

Исследование антигипоксических свойств альфредии поникшей

На моделях гиперкапнической, тканевой гипоксии показано, что экстракт альфредии поникшей обладает антигипоксическим действием. Введение экстракта увеличивает продолжительность жизни при гипоксическом воздействии, защищает органы иммунной системы — селезенку и тимус, препятствует язвообразованию в желудке и гипертрофии надпочечников.

Ключевые слова: гиперкапническая гипоксия, антигипоксические свойства, стресс, альфредия поникшая.

Гипоксия мозга — одна из основных причин развития патологии центральной нервной системы с исходом в инвалидизацию [1, 2]. Кислородная недостаточность может развиваться в организме при действии таких факторов, как гравитационные перегрузки, высокая температура среды, гиподинамия, а также при различных патологических процессах (шок, ишемическая болезнь сердца, черепно-мозговая травма, сахарный диабет и др.). Независимо от причины, вызвавшей гипоксию, она усиливает отрицательное действие фактора. Следствие гипоксии — энергетическое голодание — приводит к перестройкам интегративных систем и формированию качественно иного паттерна их взаимодействия. Влияние нового функционального «континуума» на другие органы, обеспечивающие постоянство внутренней среды, является одним из главных факторов нарушения жизнедеятельности организма, перенесшего гипоксию [3].

В связи с этим актуальным представляется поиск и изучение препаратов, обладающих антигипоксическим потенциалом, среди которых перспективу имеет альфредия поникшая — третичный реликт флоры Алтая. Нами установлено, что извлечения из растения проявляют антиоксидантную активность [4], обладают церебропротекторным, ноотропным, анксиолитическим, антидепрессантным, нормотимическим действием [5–7]. Изучение химического состава растения выявило следующие группы биологически активных веществ: флавоноиды, органические кислоты, лигнаны, кумарины, каротиноиды, полисахариды, простые фенолы, дубильные вещества, тритерпеновые соединения, стерины и аминокислоты [8, 9].

Целью настоящей работы явилось исследование антигипоксических свойств экстракта наземной части альфредии поникшей.

Экспериментальная часть

В работе использовали наземную часть альфредии поникшей, собранной в период цветения. Дикорастущее растение собирали в Усть-Канском районе Республики Горный Алтай, культивируемое растение — на экспериментальном участке Сибирского ботанического сада при Томском государственном университете (ТГУ). Высушенное сырье измельчали и просеивали через сито с диаметром отверстий 2 мм.

Экстракт получали следующим образом: измельченное сырье экстрагировали 95 % этанолом в соотношении сырье–экстрагент 1:14 при нагревании с обратным холодильником на водяной бане в течение 1,5 ч. Извлечения объединяли и упаривали в вакууме. Полученный густой экстракт представляет собой вязкую темно-коричневую субстанцию, со специфическим запахом.

Фармакологические исследования проводили на белых беспородных мышах-самках, выращенных в клинике лабораторных животных НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск). Опыты проводили в осенне-зимний и зимне-весенний периоды. Эвтаназию производили дислокацией шейных позвонков, под эфирным наркозом.

Гиперкапническую гипоксию моделировали помещением мышей в индивидуальные гермокамеры объемом 0,5 л, где животные находились до гибели [10]. Продолжительность нахождения мышей в гермокамере фиксировали.

Острую тканевую гипоксию моделировали введением раствора натрия нитропрусида в дозе 25 мг/кг после курсового введения экстрактов [11]. Хроническую тканевую гипоксию создавали введением натрия нитропрусида в течение 4 дней в дозе 1 мг/кг, на 5-е сутки — в дозе 25 мг/кг [12]. В остром контроле животные получали однократно натрия нитропруssid в дозировке 25 мг/кг и воду зондом в желудок. В хроническом контроле животные получали натрия нитропруssid в дозе 1 мг/кг и воду зондом в желудок; на 5-е сутки — летальную дозу в дозировке 25 мг/кг. Фиксировали продолжительность жизни мышей, вес селезенки, тимуса, надпочечников, количество геморрагических деструкций (язв) на слизистой оболочке желудка. В качестве препарата сравнения использовали токоферола ацетат.

О достоверности полученных данных судили методом проверки вероятности нулевой гипотезы с использованием *t* критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при доверительной вероятности $p \geq 0,95$ [13].

Обсуждение результатов

На модели гиперкапнической гипоксии введение экстракта альфредии не влияло на продолжительность жизни мышей (рис. 1).

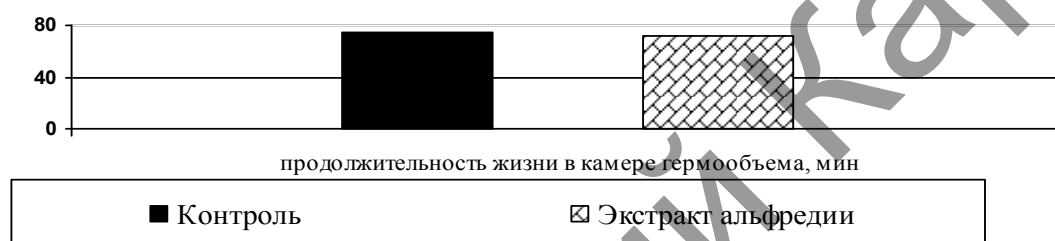


Рисунок 1. Влияние экстракта альфредии поникшей на продолжительность жизни в камере гермообъема

Определяющий показатель метода — время нахождения животных в гермокамере до агонального судорожного припадка — не отличался от такового у интактных животных. Однако нами было отмечено, что на фоне перенесенной гипоксической травмы у животных, получавших экстракт, сохраняются рефлексы — в частности, ориентировочный рефлекс и условный рефлекс пассивного избегания [14]. Это свидетельствует о том, что приём экстракта повышает резистентность мозга к гипоксическому воздействию. Церебропротекторная активность экстракта альфредии связана с наличием в растении флавоноидов и других фенольных соединений, препятствующих оксидантному стрессу. Их антирадикальная и антиоксидантная активность связана с подвижными атомами водорода гидроксигрупп [15, 16].

Из результатов, представленных в таблице, видно, что при моделировании тканевой гипоксии введение экстракта альфредии увеличивало время жизни на 50 % в сравнении с гипоксическим контролем ($p \geq 0,05$). Использование токоферола ацетата приводило к увеличению продолжительности жизни животных на 21,5 %.

Т а б л и ц а

Влияние экстракта альфредии поникшей на продолжительность жизни мышей при тканевой гипоксии ($X \pm m$, $n=6$)

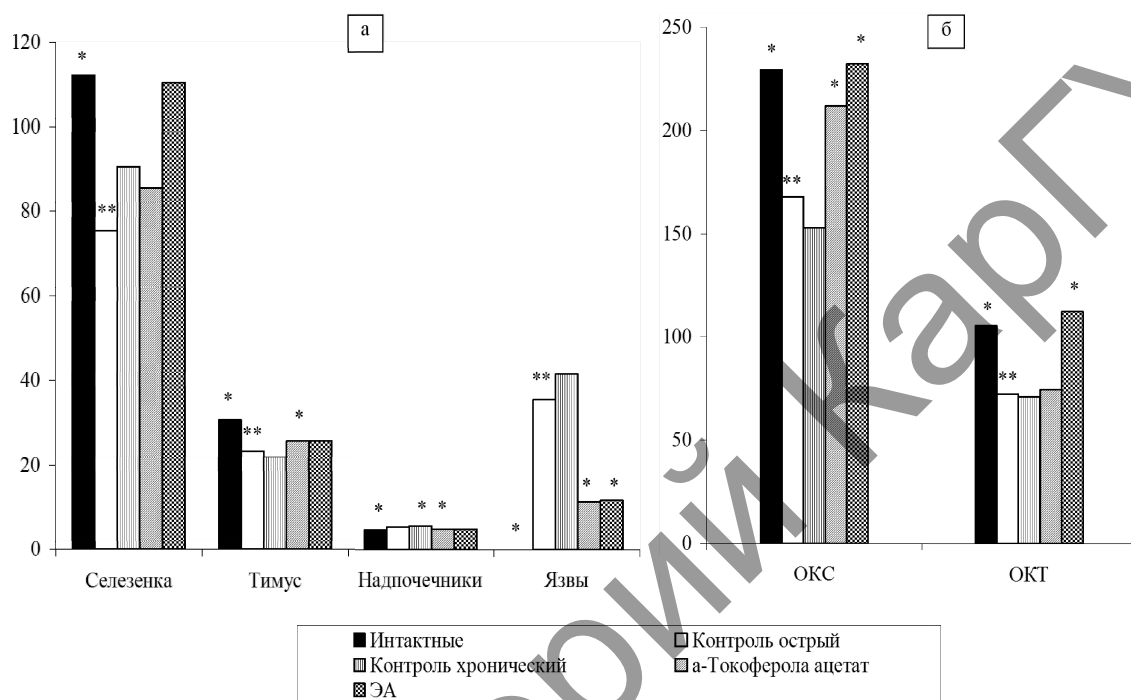
Группа наблюдения, доза	Продолжительность жизни, мин
Гипоксический контроль	13,0±0,7
Токоферола ацетат (100 мг/кг)	15,8±2,6
Экстракт альфредии (100 мг/кг)	19,5±2,7*

Примечание. * — различия достоверны в сравнении с контролем ($p \leq 0,05$).

На фоне тканевой гипоксии применение токоферола ацетата снижало количество язв в желудке в 3,7 раза, введение экстракта альфредии — в 3,5 раза в сравнении с группой хронического гипоксиче-

ского контроля (рис. 2а). Введение экстракта и препарата сравнения также выявило тенденцию к нормализации массовых показателей селезенки, тимуса и надпочечников у мышей.

Продолжительная тканевая гипоксия существенно влияла на клеточность органов. В группе хронического гипоксического контроля общая клеточность селезенки (ОКС) и тимуса (ОКТ) уменьшалась соответственно на 33,4 и 32,7 %. Экстракт альфредии нормализовал показатели клеточности органов до уровня интактных животных ($p \leq 0,05$) (рис. 2б). Использование токоферола ацетата приводило к нормализации ОКС, но не влияло на ОКТ.



* — Различия достоверны в сравнении с хроническим контролем;
 ** — в сравнении с интактным контролем ($p \leq 0,05$); а — массовые показатели органов (г) и язвенных деструкций на СОЖ; б — общая клеточность органов (млн/орган)

Рисунок 2. Влияние экстракта альфредии на состояние внутренних органов при хронической тканевой гипоксии

По величине кровоснабжения мозг занимает одно из первых мест в организме, и прекращение мозгового кровотока в течение нескольких минут приводит к необратимым изменениям центральной нервной системы [17]. Известно, что для церебральной тканевой гипоксии характерна дистрофия внутренних органов, что выразилось у животных групп патологического контроля инволюцией и снижением массы тимуса и селезенки и гипертрофией надпочечников — характерная реакция органов-маркеров стресса [18].

Введение экстракта альфредии в дозе 100 мг/кг препятствовало изменениям внутренних органов. Экстракт в меньшей степени влиял на изменение массы тимуса и селезенки, в то время как масса надпочечников снижалась в сравнении с патологическим контролем до уровня интактного контроля. Существенно снижалось изъязвление слизистой оболочки желудка.

Выводы

Полученные данные позволяют сделать вывод о наличии у экстракта альфредии понижшей антигипоксического действия. Введение экстракта увеличивало продолжительность жизни при тканевой гипоксии, защищает органы иммунной системы — селезенку и тимус и препятствует образованию язв на слизистой оболочке желудка.

Список литературы

- 1 Чехонин В.П., Лебедев С.В., Володин Н.Н. и др. Экспериментальное моделирование перинатального гипоксически-ишемического поражения мозга // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2002. — Т. 1, № 2. — С. 9–16.
- 2 Бакибаев А.А., Горикова В.К., Саратиков А.С. Антигипоксические свойства органических соединений // Химико-фармацевтический журнал. — 1997. — № 2. — С. 3–16.
- 3 Зюзьков Г.Н. Механизмы гематологических сдвигов в постгипоксическом периоде // Бюллетень СО РАМН. — 2003. — № 1. — С. 20–23.
- 4 Шилова И.В., Кувачева Н.В., Короткова Е.И. и др. Антиоксидантные свойства биологически активных веществ *Alfrediacernua* и *A. nivea* (Asteraceae) // Растительные ресурсы. — 2008. — Т. 44, № 8. — С. 114–121.
- 5 Мустафин Р.Н., Шилова И.В., Суслов Н.И. и др. Ноотропная активность экстрактов из дикорастущей и культивируемой альфредии поникшей // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2010. — Т. 150, № 9. — С. 302–304.
- 6 Мустафин Р.Н., Шилова И.В., Суслов Н.И. Антидепрессантные и анксиолитические свойства экстракта *Alfrediacernua* (Asteraceae) // Растительные ресурсы. — 2011. — Т. 47, № 3. — С. 130–136.
- 7 Мустафин Р.Н., Суслов Н.И., Шилова И.В. и др. Влияние экстрактов альфредии поникшей на когнитивные функции мозга // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр. — Пятигорск, 2009. — Вып. 64. — С. 473–474.
- 8 Амельченко В.П., Шилова И.В., Кувачева Н.В. Особенности развития и компонентный состав *Alfrediacernua* (Asteraceae) в условиях интродукции (г. Томск) // Растительные ресурсы. — 2009. — № 2. — С. 23–31.
- 9 Кувачева Н.В., Шилова И.В., Пяк А.И., Амельченко В.П. Содержание и состав флавоноидов и фенолкарбоновых кислот *Alfrediacernua* (Asteraceae) // Растительные ресурсы. — 2011. — № 4. — С. 105–113.
- 10 Иванова И.А., Бобков Ю.Г., Машковский М.Д. Теоретические и экспериментальные основы фармакотерапии гипоксии мозга // Фармакологическая регуляция состояний дезадаптации. — М.: Медицина, 1986. — С. 82–97.
- 11 Караев А.Я., Ковлер М.А., Авакумов В.М. Противогипоксическое действие карнитина хлорида // Фармакология и токсикология. — 1991. — Т. 54, № 5. — С. 42–44.
- 12 Зеленская К.Л., Пашинский В.Г., Поветьева Т.Н. и др. Девясил высокий — адаптоген и антигипоксикант. — Томск: Изд-во Томск. гос. пед. ун-та, 2004. — 204 с.
- 13 Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Медицина, 2005. — 832 с.
- 14 Мустафин Р.Н., Суслов Н.И., Шилова И.В., Кувачева Н.В. Влияние экстрактов альфредии поникшей на поведение, память и работоспособность в эксперименте // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2010. — Т. 73, № 1. — С. 16–19.
- 15 Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник РАМН. — 1998. — № 7. — С. 43–50.
- 16 Швец П. Свободные радикалы, этиопатогенез и пути терапевтического воздействия // Словакофарма ревю. — 1996. — № 4. — С. 75–77.
- 17 Угрюмов В.М. Тяжелая закрытая травма черепа и головного мозга — Л., 1974. — 225 с.
- 18 Аксиненко С.Г., Поветьева Т.Н., Провалова Н.В. и др. Тканевая гипоксия, вызванная нитропруссидом натрия, и её коррекция растительными средствами // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2007. — Прил. 1. — С. 49–53.

Р.Н.Мустафин, И.В.Шилова, Н.И.Суслов, А.А.Бакибаев

Салбыраған альфредияның антигипоксиялық қасиеттерін зерттеу

Мақалада гиперкапникалық, бұлшықты гипоксия модельдеріне салбыраған альфредияның антигипоксиялық әсері бар екені анықталды. Гипоксиялық әсерде экстракты енгізу өмір сүруді ұзартады, сондай-ақ ағзаның иммунді жүйесін қорғайды.

R.N.Mustafin, I.V.Shilova, N.I.Suslov, A.A.Bakibayev

Investigation of antihypoxic properties of *Alfrediacernua*

The extract of *Alfrediacernua* is shown to exhibit antihypoxemic properties on the models of hypercapnia and tissue hypoxia. Introduction of the extract enlarges life expectancy at hypoxemic influence. The extract protects the immune system — the spleen and thymus, prevents gastric ulceration and hypertrophy of adrenal glands.

References

- 1 Chekhonin V.P., Lebedev S.V., Volodin N.N. et al. *Questions of gynecology of obstetrics and perinatology*, 2002, 1(2), pp. 9–16.
- 2 Bakibayev A.A., Gorshkova V.K., Saratkov A.S. *Chemical and pharmaceutical journal*, 1997, 2, pp. 3–16.
- 3 Zyuzkov G.N. *Bulletin of Siberian branch of Russian Academy of Medical Science*, 2003, 1, pp. 20–23.
- 4 Shilova I.V., Kuvacheva N.V., Korotkova E.I. et al. *Vegetative resources*, 2008, 8, pp. 114–121.
- 5 Mustafin R.N., Shilova I.V., Suslov N.I. et al. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2011, 3, pp. 333–335.
- 6 Mustafin R.N., Shilova I.V., Suslov N.I. et al. *Vegetative resources*, 2011, 3, pp. 130–136.
- 7 Mustafin R.N., Suslov N.I., Shilova I.V. et al. *Development, research and marketing of new pharmaceutical production*, Pyatigorsk, 2009, 64, pp. 473–474.
- 8 Amelchenko V.P., Shilova I.V., Kuvacheva N.V. *Vegetative resources*, 2009, 2, pp. 23–31.
- 9 Kuvacheva N.V., Shilova I.V., Pyak A.I., Amelchenko V.P. *Vegetative resources*, 2011, 4, pp. 105–113.
- 10 Ivanova I.A., Bobkov Yu.G., Mashkovskiy M.D. *Pharmacological regulation of conditions of dezadaptation*, Moscow: Medicine, 1986, pp. 82–97.
- 11 Karayev A.Ya., Kovler M.A., Avakumov V.M. *Pharmacology and toxicology*, 1991, 5, pp. 42–44.
- 12 Zelenskaya K.L., Pashinskiy V.G., Povetyeva T.N. et al. *Inula helenium as an adaptogen and antihypoxant*, Tomsk: Publishing house of TSPU, 2004, 204 p.
- 13 *Guide to experimental (pre-clinic) studying of new pharmacological substances*, Moscow: Medicine, 2005, 832 p.
- 14 Mustafin R.N., Suslov N.I., Shilova I.V., Kuvacheva N.V. *Experimental and clinical pharmacology*, 2010, 1, pp. 16–19.
- 15 Vladimirov Yu.A. *Messenger of Russian Academy of Medical Science*, 1998, 7, pp. 43–50.
- 16 Shvets P. *Slovakofarma revue*, 1996, 4, pp. 75–77.
- 17 Ugryumov V.M. *Heavy closed injury of a skull and brain*, Leningrad, 1974, 225 p.
- 18 Aksinenko S.G., Povetyeva T.N., Provalova N.V. et al. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 2007, 1, pp. 49–53.