

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ФИТОЭКДИСТЕРОИДОВ

В. Н. Сыров, Ж. И. Исламова, Ф. Р. Эгамова, Н. Х. Юлдашева,
З. А. Хушбактова¹

Фитоэктистероиды эктистерон, туркестерон и циастерон у крыс, подвергаемых длительному иммобилизационному стрессу, уменьшают инволюцию тимуса и селезенки, способствуют нормализации массы надпочечников и содержания в них аскорбиновой кислоты и холестерина. В печени стрессированных животных фитоэктистероиды препятствуют резкому снижению концентрации гликогена, проявляют тенденцию к нормализации соотношения уровней молочной и пировиноградной кислот, поддерживают гомеостаз макроэргических соединений, а также повышают активность антиоксидантных ферментов, ингибируют процессы перекисного окисления липидов. По стресс-протекторной активности исследуемые фитоэктистероиды в ряде случаев превосходят экстракт элеутерококка.

Ключевые слова: фитоэктистероиды; эктистерон; туркестерон; циастерон; стресс-протекторное действие; нарушение обмена веществ.

ВВЕДЕНИЕ

Стресс-реакция, возникающая при действии различных экстремальных факторов внешней среды, часто реализуется как необходимое звено адаптации организма. Однако при чрезмерной силе или длительности стресса процесс адаптации может оказаться неэффективным, и тогда стрессовая реакция организма из неспецифического звена адаптации может превратиться в общее неспецифическое звено патогенеза развития целого ряда патологических состояний [3, 23].

Поэтому защитный характер стресса весьма относителен и зачастую нуждается в фармакокоррекции стресс-протекторными средствами [5, 9]. Использование препаратов, способных оптимизировать метаболические процессы в организме при разнообразных нарушениях, может предохранять его от дестабилизирующих воздействий различного генеза.

Перспективными стресс-протекторными средствами могут оказаться соединения, относящиеся к фитоэктистероидам. Ранее было показано, что некоторые из них оказывают нормализующее влияние на обмен веществ в случае его катаболической направленности при многих заболеваниях, обладают мембраностабилизирующим и антигипоксическим действием, поддерживают гомеостаз энергопродукции на необходимом уровне для обеспечения жизнедеятельности организма [16, 18, 19, 26]. В настоящей работе рассматривается способность фитоэктистероидов предотвра-

щать отрицательные последствия длительного иммобилизационного стресса в экспериментальных условиях.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фитоэктистероиды эктистерон, туркестерон и циастерон выделены из *Ajuga turkestanica* (Regel) Briq. сотрудниками лаборатории химии гликозидов нашего Института [12]. Их способность адаптировать организм к стрессорному воздействию изучали в опытах на белых беспородных крысах-самцах массой 150 – 160 г, в каждой группе было по 8 – 10 животных (питомник СЭС медико-санитарного объединения при МЗ РУз). Условия проведения эксперимента соответствовали правилам работы с лабораторными животными, содержание животных осуществляли в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных целей (Страсбург, 1986). Забывали животных мгновенной декапитацией под легким эфирным наркозом. Животных подвергали иммобилизационному стрессу в течение 16 ч (фиксация в положении на спине) [5]. Эктистерон, туркестерон и циастерон вводили в виде водных растворов непосредственно перед началом эксперимента внутрь в дозе 5 мг/кг. Референс-препаратом был препарат, обладающий общетонизирующим действием, — экстракт элеутерококка жидкий [8] производства ОАО “Дальхимфарм”, который проявляет адаптогенное действие [5]. Экстракт элеутерококка вводили крысам контрольной группы аналогичным образом в дозе 0,2 мл/100 г массы тела. Экстракт элеутерококка перед экспериментом dealкоголизировали, затем объем лекарственного

¹ Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова АН Республики Узбекистан, Ташкент, 100170, пр. М. Улугбека, 77, e-mail: zainab@icps.org.uz

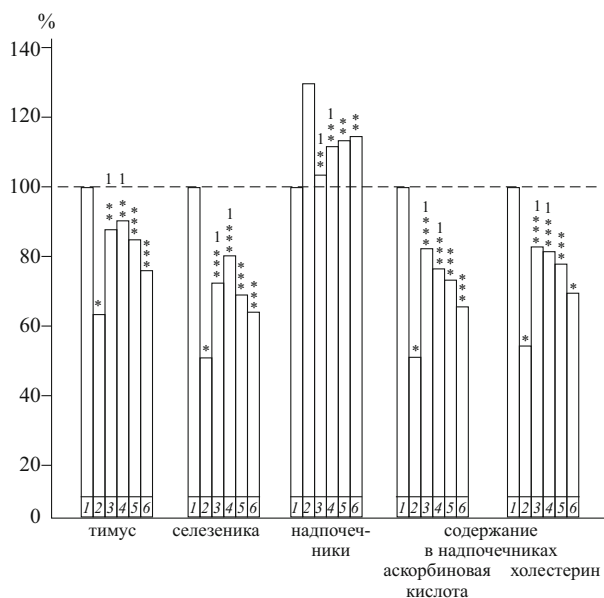


Рис. 1. Влияние фитоэкдистероидов и экстракта элеутерококка на некоторые проявления реакции напряжения у крыс, вызванной их 16-часовой иммобилизацией в положении на спине.

По оси ординат — масса тимуса, селезенки, надпочечников и содержание в надпочечниках аскорбиновой кислоты и холестерина, выраженные в % к соответствующим значениям интактных животных. 1 — интактные животные; 2 — контроль (стресс); 3 — стресс + экдистерон; 4 — стресс + туркестерон; 5 — стресс + циастерон; 6 — стресс + экстракт элеутерококка, $n = 8 - 10$. Здесь, а также в таблице и на рис. 2:

— достоверно к соответствующим показателям интактных животных ($p < 0,05$);

** — к контролю ($p < 0,05$);

¹ — к показателям группы животных, получавших экстракт элеутерококка ($p < 0,05$).

средства доводили дистиллированной водой до первоначального (1:1) объема и вводили в оптимальной дозе, подобранной в предварительных экспериментах (в данном случае 0,2 мл на 100 г массы тела).

По окончании стрессорного воздействия животных подвергали декапитации под легким ингаляционным

наркозом. Всего было 6 групп животных по 8–10 крыс в каждой. 1-я группа — интактные животные; 2-я — контроль (стресс); 3-я — стресс + экдистерон; 4-я — стресс + туркестерон; 5-я — стресс + циастерон; 6-я — стресс + экстракт элеутерококка. Стресс-протекторную активность исследуемых фитоэкдистероидов оценивали по предотвращению ими изменения массы тимуса, селезенки и надпочечников, а также по действию на некоторые биохимические процессы, резко нарушенные при иммобилизационном стрессе [3, 5]. С этой целью в ткани надпочечников определяли содержание аскорбиновой кислоты и холестерина [22] (в первом случае использовали левый, а во втором — правый надпочечник). В ткани печени определяли содержание гликогена [25], молочной и пировиноградной кислот (МК и ПВК) [11], адениннуклеотидов [4], супероксиддисмутазы (СОД) [6], каталазы [7], диеновых конъюгатов (ДК) [13], малонового диальдегида (МДА) [14]. Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) системы МК-ПВК гепатоцитов рассчитывали по [10], энергетический заряд системы по Atkinson D. E. [24]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных (таблица, рис. 1 и 2) показал, что длительный иммобилизационный стресс проявляется типичной картиной реакции напряжения организма, как и в большинстве других исследований [3, 5]. Так, если у интактных животных относительная масса тимуса и селезенки составляла $273 \pm 17,1$ и $662,0 \pm 33,6$ мг/100 г, то у стрессированных животных масса этих органов уменьшилась до $173,0 \pm 10,6$ и $362,0 \pm 11,8$ мг/100 г соответственно. Масса надпочечников у стрессированных животных, напротив, заметно возрастала (у интактных — $22,4 \pm 1,1$, а у стресси-

Влияние фитоэкдистероидов (5 мг/кг, внутрь, однократно) и экстракта элеутерококка (0,2 мл/100 г, внутрь, однократно) на содержание метаболитов энергетического обмена в печени крыс после иммобилизационного стресса ($M \pm m$, $n = 8 - 10$)

Условия эксперимента	Интактные животные	Стресс (контроль)	Экдистерон + стресс	Туркестерон + стресс	Циастерон + стресс	Экстракт элеутерококка + стресс
Гликоген, мг%	$2109 \pm 72,4$	$1147 \pm 49,7^*$	$1859 \pm 66,1^{**},1$	$1926 \pm 59,2^{**},1$	$1850 \pm 68,2^{**},1$	$1483 \pm 80,0^{**}$
МК, мг%	$85,7 \pm 4,2$	$178,6 \pm 8,6^*$	$102,6 \pm 7,2^{**}$	$98,6 \pm 6,4^{**}$	$106,8 \pm 7,2^{**}$	$110,0 \pm 8,2^{**}$
ПВК, мг%	$2,09 \pm 0,22$	$1,30 \pm 0,12^*$	$1,88 \pm 0,14^{**}$	$1,98 \pm 0,18^{**}$	$1,82 \pm 0,14^{**}$	$1,72 \pm 0,13^{**}$
ОВП МК/ПВК, мВ	$-253,5$	$-269,6$	$-257,3$	$-256,1$	$-258,3$	$-259,4$
АТФ, мкМ/г ткани	$2,84 \pm 0,07$	$1,92 \pm 0,004^*$	$2,68 \pm 0,06^{**},1$	$2,76 \pm 0,07^{**},1$	$2,70 \pm 0,08^{**},1$	$2,38 \pm 0,05^{**}$
АДФ, мкМ/г ткани	$0,82 \pm 0,03$	$0,68 \pm 0,02^*$	$0,78 \pm 0,02^{**}$	$0,78 \pm 0,4^{**}$	$0,76 \pm 0,03$	$0,74 \pm 0,02$
АМФ, мкМ/г ткани	$0,65 \pm 0,03$	$0,86 \pm 0,04^*$	$0,70 \pm 0,03^{**}$	$0,68 \pm 0,02^{**},1$	$0,72 \pm 0,03^{**}$	$0,80 \pm 0,04^*$
Сумма адениннуклеотидов	$4,31 \pm 0,18$	$3,46 \pm 0,15^*$	$4,16 \pm 0,16^{**}$	$4,22 \pm 0,17^{**}$	$4,18 \pm 0,16^{**}$	$3,92 \pm 0,18$
Энергетический заряд	0,754	0,653	0,738	0,746	0,737	0,701

Примечание: МК — молочная кислота; ПВК — пировиноградная кислота; ОВП МК/ПВК — окислительно-восстановительный потенциал системы МК-ПВК; АТФ — аденозинтрифосфат; АДФ — аденозиндифосфат; АМФ — аденозинмонофосфат.

рованных — $28,2 \pm 1,2$ мг/100 г). В надпочечниках при этом снижалось содержание аскорбиновой кислоты (у интактных животных — $380,0 \pm 19,1$, у стрессированных — $200,0 \pm 16,8$ мг %) и холестерина (у интактных — 2773 ± 199 , у стрессированных — 1592 ± 165 мг %) (рис. 1). О серьезных нарушениях в организме животных, подвергавшихся стрессорному воздействию, свидетельствовали и некоторые параметры энергетического обмена, эндогенной антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов (ПОЛ). Из данных таблицы видно, что в печени резко сниженным было содержание резервных углеводов, изменялось соотношение в содержании МК и ПВК, характерное для сдвига окислительных процессов в сторону анаэробно-биоза и, соответственно, снижения процесса энергообразования.

На это указывало и уменьшение величины ОВП МК/ПВК гепатоцитов на $16,1$ мВ, а также суммы адениннуклеотидов (на $19,7$ %) и энергетического заряда системы. Негативной стороной длительного стрессорного воздействия на организм было уменьшение активности СОД и каталазы (на $55,0$ и $35,2$ % соответственно) (рис. 2). В нормальных условиях СОД преобразует супероксидный радикал в перекись водорода (H_2O_2), избыточная выработка которой инактивируется каталазой. Развивающаяся же в условиях стресса гипоксия [1] нарушает бесперебойную и согласованную работу дыхательной цепи и снижает активность ферментов антиоксидантной защиты, приводит к неполному восстановлению кислорода и образованию в значительных количествах супероксидного радикала. В результате увеличивается возможность к вступлению в реакцию с O_2^- перекиси водорода и образованию свободного гидроксильного радикала OH^\cdot , являющегося одним из самых сильных окислителей [2]. Накопление свободных радикалов усиливает процессы ПОЛ клеточных мембран различных органов и тканей, отрицательно сказывающееся на их функциональном состоянии. В проведенных экспериментах на резкую активацию ПОЛ указывало увеличение в гомогенатах печени концентраций диеновых конъюгатов и малонового диальдегида (на $104,9$ и $112,9$ %), соответственно первичных и конечных продуктов этого процесса. Введение непосредственно перед началом стрессорного воздействия крысам исследуемых фитостероидов не только во многом устраняло характерные признаки стресс-реакции (рис. 1), но и благоприятно сказалось на показателях метаболического состояния организма (таблица). Так, их введение предотвращало резкое снижение гликогена в печени стрессированных крыс (его содержание под влиянием экистерона, туркестерона и циастерона было только на $11,8$, $8,7$ и $12,3$ % ниже, чем у интактных животных). Отмечена тенденция к восстановлению аэробного гликолиза и нормализации гомеостаза АТФ. Энергетический заряд системы под влиянием экистероидов

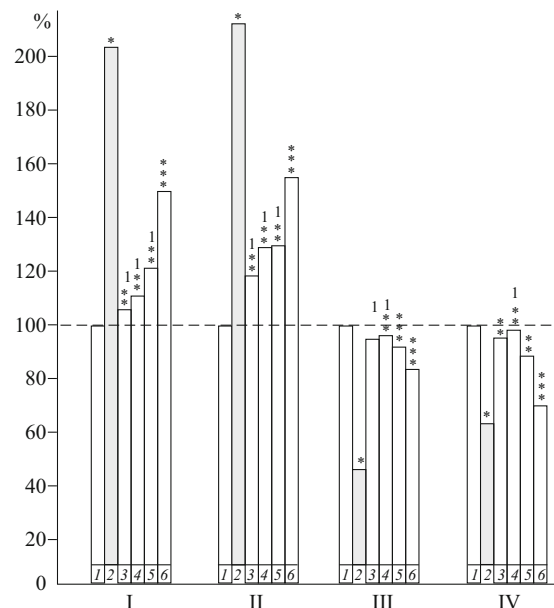


Рис. 2. Влияние фитостероидов и экстракта элеутерококка на показатели ПОЛ и состояние антиоксидантной системы организма крыс после иммобилизационного стресса (в % к соответствующим значениям интактных животных):

I — диеновые конъюгаты; II — малоновый диальдегид; III — супероксиддисмутаза; IV — каталаза.

1 — интактные животные; 2 — контроль (стресс); 3 — стресс + экистерон; 4 — стресс + туркестерон; 5 — стресс + циастерон; 6 — стресс + экстракт элеутерококка, $n = 8 - 10$.

был на $13,0$, $14,2$ и $12,9$ % выше, чем в контроле. Последнее в конечном итоге и определяет жизнеспособность клетки при различных экстремальных воздействиях.

Из рис. 2 также видно, что введение фитостероидов крысам, подвергнутым тяжелому иммобилизационному стрессу, предохраняло от инактивации ферменты антиоксидантной защиты. Активность СОД и каталазы под действием экистерона, туркестерона и циастерона была выше контрольных значений. Процессы ПОЛ в этом случае выражены значительно слабее. Содержание ДК в ткани под влиянием исследуемых фитостероидов было выше соответствующих значений у интактных животных только на $9,1$, $15,5$ и $20,4$ %, а МДА — на $19,3$, $29,0$ и $30,6$ %. Следует отметить, что хотя исследуемые фитостероиды отличались между собой по строению (туркестерон в отличие от экистерона и большинства других соединений этого класса имеет гидроксильную группу при С-11, циастерон содержит в своей структуре лактоновое кольцо), а соответственно и по ряду биологических свойств в опытах *in vitro* [17, 21], в данных экспериментах их эффект носил однонаправленный характер (циастерон оказывал более слабое действие). Этот факт, а также то, что все они имели определенное сходство с действием известного адаптогенного средства — экстракта элеутерококка (рис. 1, 2 и таблица) свидетельствует о том, что фитостероиды можно отнести к эффективным веществам, позволяющим

адаптировать организм к неблагоприятному влиянию среды. Поэтому фитостероиды, а также уже созданные на их основе лекарственные средства – экистен, аюстан (опытное производство ИХРВ АН РУз), используемые в качестве стимуляторов обменных процессов в организме, проявляющие тонизирующее, актопротекторное, иммуномодулирующее действие [15, 20, 26], по-видимому, прежде всего, следует считать универсальными адаптогенными средствами.

ВЫВОДЫ

1. Фитостероиды экистерон, туркестерон и циастерон, выделенные из *Ajuga turkestanica*, уменьшают негативные изменения в организме крыс при иммобилизационном стрессе. Они примерно в равной степени предотвращают инволюцию тимуса, селезенки и увеличение массы надпочечников (нормализуют в надпочечниках содержание аскорбиновой кислоты и холестерина). В печени животных со стрессом фитостероиды препятствуют резкому снижению гликогена, устраняют дисбаланс в содержании молочной и пировиноградной кислот, поддерживают гомеостаз макроэргических фосфорных соединений, повышают активность ферментов антиоксидантной защиты, ингибируют процессы перекисного окисления липидов.

2. Стресс-протекторное действие фитостероидов в целом было аналогично действию экстракта элеутерококка, но проявлялось в более выраженной степени.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Р. Авакян, А. И. Лазарев, Л. Г. Прокопенко, Б. С. Утешев, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **65**(3), 50 – 53 (2002).
2. А. А. Болдырев, *Соросовский образоват. журн.*, **7**(4), 22 – 28 (2001).
3. И. И. Брехман, *Элеутерококк*, Наука, Ленинград (1968).
4. Т. В. Венкстерн, А. А. Баев, *Биохимия*, **22**(6), 1043 – 1055 (1957).
5. И. В. Дардымов, *Женьшень, элеутерококк*, Наука, Москва (1976).
6. Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова, *Лаб. дело*, № 10, 30 – 33 (1983).
7. М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев, *Лаб. дело*, № 1, 16 – 19 (1988).
8. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, РИА “Новая волна”, Москва (2008), с. 129.
9. Ф. З. Меерсон, *Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца*, Медицина, Москва (1984).
10. М. Е. Райскина, Н. А. Онищенко, Б. М. Шаргородский и др., *Методы прижизненного исследования метаболизма сердца*, Медицина, Москва (1970).
11. В. И. Рубин, Э. Г. Ларский, Л. С. Орлова, *Биохимические методы исследования в клинике*, Изд-во Саратовского университета, Саратов (1980).
12. З. Саатов, В. Н. Сыров, А. У. Маматханов, Н. К. Абубакиров, *Химия природ. соед.*, № 2, 152 – 160 (1994).
13. И. Д. Стальная, *Современные методы в биохимии*, В. Н. Орехович (ред.), Медицина, Москва (1977), сс. 63 – 64.
14. И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, *Современные методы в биохимии*, В. Н. Орехович (ред.), Медицина, Москва (1977), сс. 66 – 68.
15. В. Н. Сыров, *XII Российский национальный конгресс “Человек и лекарство”*, Тез. докл., Москва (2005), с. 561.
16. В. Н. Сыров, *Конференция “Актуальные проблемы химии природных соединений”*, Тез. докл., Ташкент (2010), с. 33.
17. В. Н. Сыров, З. Саатов, Ш. Ш. Сагдуллаев, А. У. Маматханов, *Хим.-фарм. журн.*, **35**(12), 23 – 27 (2001).
18. В. Н. Сыров, З. А. Хушбактова, М. А. Джахангирова, А. К. Шарипов, *Экдистероидсодержащие препараты и дозированные физические нагрузки в подготовке спортсменов*, Лидер Пресс, Ташкент (2011).
19. В. Н. Сыров, Г. А. Шахмурова, З. А. Хушбактова, *Узб. биол. журн.*, № 3, 11 – 14 (2009).
20. В. Н. Сыров, Г. А. Шахмурова, З. А. Хушбактова, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **71**(5), 40 – 43 (2008).
21. З. А. Хушбактова, А. В. Царук, В. М. Гукасов, В. Н. Сыров, *Теор. и приклад. экология*, № 1, 31 – 34 (2012).
22. А. С. Яичникова, *Пробл. эндокринол.*, № 2, 67 – 71 (1973).
23. К. В. Яременко, *Оптимальное состояние организма и адаптогены*, ЭЛБИ-СПб, Санкт-Петербург (2008).
24. D. E. Atkinson, *Biochemistry*, **7**(11), 4030 – 4034 (1968).
25. S. Lo, J. C. Russell, A. W. Taylor, *J. Appl. Physiol.*, **28**(2), 234 – 236 (1970).
26. V. N. Syrov, Z. A. Khushbaktova, F. R. Egamova, et al., *Xth International Symposium on Chemistry of Natural Compounds, Abstracts*, Tashkent — Bukhara (2013), p. 59.

Поступила 03.04.14

STRESS-PROTECTIVE PROPERTIES OF PHYTOECDYSTEROIDS

V. N. Syrov, Zh. I. Islamova, F. R. Egamova, N. Kh. Yuldasheva, and Z. A. Khushbaktova*

S. Yu. Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of Uzbekistan Republic, M. Ulugbek prosp. 77, Tashkent, 100170 Uzbekistan

* e-mail: zainab@icps.org.uz

Introduction of phytoecdysteroids (ecdysterone, turkesterone and nyasterone) to rats subjected to prolonged immobilization stress significantly decreased involution of the thymus and spleen, contributed to normalization of increased mass of adrenal glands, and restored their content of ascorbic acid and cholesterol. In the liver of stressed animals, phytoecdysteroids prevented sharp decrease in the glycogen concentration, showed a clear trend toward normalization of the ratio of lactic and pyruvic acids, maintained homeostasis of macroergic phosphorus compounds, and increased the activity of antioxidant enzymes that inhibit lipid peroxidation. With respect to the stress-protective activity, the studied phytoecdysteroids are in some cases superior to eleutherococcus extract.

Keywords: phytoecdysteroids; ecdysterone; turkesterone; cyasterone; stress-protective activity; metabolic imbalance