

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

ПРИМЕНЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ФИЗИЧЕСКОМ ПЕРЕНАПРЯЖЕНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В. В. Панюшкин, Е. А. Рожкова, Е. А. Турова, Р. Д. Сейфулла,
А. С. Гозулов, Ю. М. Кузнецов¹

У мышей изучено влияние курсового применения биофлавоноидов кверцетина и диквертина на фосфолипидный и жирнокислотный состав эритроцитарных мембран, а также активность амилорид-зависимого $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ трансмембранного транспорта в условиях хронического физического перенапряжения, вызванного чрезмерными беговыми нагрузками. Изученные препараты предотвращают изменения химического состава и обусловленные ими структурные и функциональные изменения мембран эритроцитов.

Ключевые слова: биофлавоноиды; физическая нагрузка; мембрана эритроцитов; фосфолипидный и жирнокислотный состав; $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ обмен

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одной из актуальных проблем спортивной фармакологии является профилактика и лечение острого и хронического физического перенапряжения (ФП) организма [6, 7]. Существенное снижение физической работоспособности (ФР) при чрезмерных физических нагрузках (ФН) сопряжено с активацией окислительного стресса и осложнением условий кровотока в микроциркуляторном звене при значительном уменьшении эластичности мембран эритроцитов [5, 8]. Логично предположение, что обладающие антиоксидантной активностью флавоноиды, предупреждающие у экспериментальных животных развитие состояния хронического ФП и нормализующие в значительной степени оксидативный стресс и гемореологические параметры [5, 9] при чрезмерных ФН, способны оказывать влияние на структурные и функциональные особенности эритроцитарных мембран.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Развитие состояния хронического ФП у белых нелинейных мышей самцов (16–18 г) моделировали при 12-дневном ежедневном 3-минутном беге с подъемом 20° на скорости 19 м/мин (в режиме высокой мощности ФН — смешанная аэробно-анаэробная зона энергообеспечения). В контрольной группе мышам ежедневно внутривенно вводили по 0,5 мл воды, в опытных группах — по 0,5 мл водной суспензии из таблеток кверцетина (3,4,7,3',4'-пентаоксифлавонон) или диквертина (дигидрокверцетин, 3,3,4,5,7-пента-гидро-

ксифлавонон) в дозах 100 мг/кг в сутки. Как было показано ранее [9], использование препаратов флавоноидов по указанной схеме предотвращает развитие хронического ФП и окислительного стресса у мышей, способствует сохранению их ФР и предохраняет от существенных гемореологических нарушений при малых скоростях сдвига (в звене микроциркуляции).

У животных из каждой экспериментальной группы на 1-й день эксперимента (исходно) и на 12-й день ежедневных ФН (ко времени развития в контроле хронического ФП) в пробах крови (утром в покое) осуществляли определение фосфолипидного (методом двумерной тонкослойной хроматографии в силикагеле [11]) и жирнокислотного состава (методом газовой хроматографии предварительно метилированных жирных кислот, ЖК с использованием хроматографа Hewlett Packard 4401.347 с гелием в качестве газа-носителя и колонок Stabilwax) эритроцитарных мембран [1], а также оценку скорости функционирования амилорид-зависимого трансмембранного $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ обменника (по методу Escobales в модификации С. Н. Орлова [4]).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента в программе Statistica 6,0 (StatSoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Высокоинтенсивная ежедневная беговая нагрузка и развитие у мышей хронического ФП [9] приводили в контроле к значительным изменениям фосфолипидного состава эритроцитарных мембран (рис. 1) — снижению содержания фосфатидилсерина (ФС), фосфатидилинозитола (ФИ), фосфатидилэтаноламина (ФЭА) и повышению содержания фосфатидилхолина (ФХ), сфингомиэлина (СМ) и лизофосфатидилхолина

¹ ГБУЗ “Московский научно-практический центр медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины”, 107120, Москва, Земляной вал, 53.

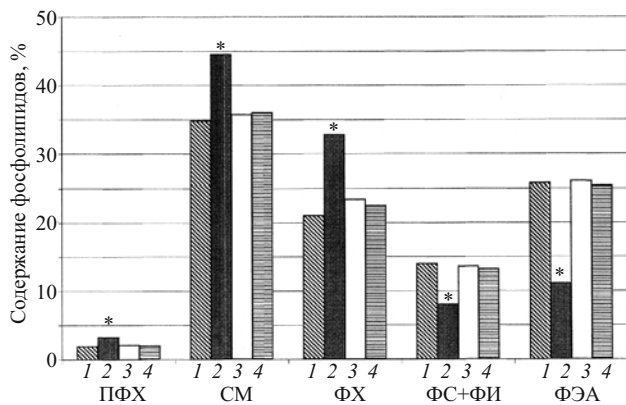


Рис. 1. Влияние флавоноидов на относительное (в %) содержание различных классов фосфолипидов в составе эритроцитарных мембран у мышей при развитии хронического физического перенапряжения.

* — достоверные ($p < 0,05$) различия с исходными значениями (1-й день).
 1 — исходно; 2 — ФП контроль (12-й день ФН); 3 — ФП кверцетин (12-й день ФН); 4 — ФП диквертин (12-й день ФН).

(ЛФХ). Изменения свидетельствуют об определенной структурной перестройке мембран, что отражает тенденцию к снижению степени ненасыщенности мембранных фосфолипидов, относительном возрастании детергентных продуктов метаболизма фосфолипидов, образующихся в результате интенсификации свободнорадикальных процессов и активации клеточных фосфолипаз, разрушающих мембранные фосфолипиды и приводящих к дезинтеграции липидного бислоя.

Курсовое использование кверцетина или диквертина на фоне ежедневных чрезмерных ФН существенно ослабляло наблюдаемые сдвиги в фосфолипидном составе эритроцитарных мембран.

ФП в контроле сопровождалось и существенными сдвигами в жирнокислотном составе эритроцитарных мембран (рис. 2). При ФП животных происходило достоверное снижение содержания в эритроцитарных мембранах полиненасыщенных ЖК (линолевой 18:2, декозопентаеновой 22:5, арахидоновой 20:4 и олеиновой 18:1) и повышение уровней насыщенных (пальмитиновой 16:0, стеариновой 18:0 и лигноцериновой 24:0). Кверцетин и диквертин в существенной степени купировали наблюдаемые изменения.

Фосфолипидный состав мембраны и взаимное расположение молекул фосфолипидов, а также упаковка ЖК-цепей в значительной степени определяют свойства мембраны, в том числе и ее эластичность [10]. Фосфолипиды, содержащие исключительно насыщенные ЖК-остатки имеют максимально плотную упаковку ЖК-цепей с их параллельным расположением друг к другу и перпендикулярным к поверхности мембраны. Это способствует плотной ригидной конфигурации мембран [3]. Наличие в биомембранах ненасыщенных ЖК (в основном, олеиновой, линолевой и арахидоновой), имеющих около двойной связи цис-конфигурацию и изгиб цепи атомов, обеспечивает менее ком-

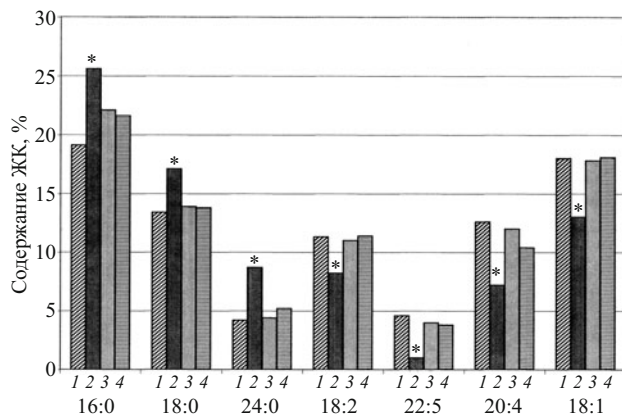


Рис. 2. Влияние флавоноидов на жирнокислотный состав эритроцитарных мембран животных при физическом перенапряжении, %.

* — достоверные ($p < 0,05$) различия с исходными значениями (1-й день).
 1 — исходно; 2 — ФП контроль (12-й день ФН); 3 — ФП кверцетин (12-й день ФН); 4 — ФП диквертин (12-й день ФН).

пактную упаковку ЖК-остатков и большую эластичность мембраны.

Активные формы кислорода дестабилизируют мембранные структуры. Фосфолипиды мембранного бислоя, вследствие их высокой ненасыщенности, подвергаются преимущественному повреждающему воздействию свободных радикалов [2]. Подавление функциональной активности мембранных ферментов, рецепторов и каналаобразующих белков при окислительном стрессе связано, по видимому, не только с ограничениями конформационной подвижности встроенной в мембрану полипептидной цепи, но и с взаимодействием свободных аминогрупп (и их инактивацией) с продуктами распада гидроперекисей фосфолипидов — диальдегидами.

Так, проведенная нами оценка такого чувствительного к окислительному стрессу маркера функциональной активности мембран эритроцитов, как скорость функционирования амилорид-зависимого Na^+H^+ трансмембранного транспорта свидетельствовала, что в условиях ФП животных эта скорость существенно возрастала (видимо, вследствие структурных нарушений мембраны при активизации процессов ПОЛ). Курсовое использование изученных препаратов флавоноидов оказывало на этот показатель нормализующее действие (рис. 3).

ВЫВОДЫ

1. Состояние хронического физического перенапряжения мышей в эксперименте приводит к существенным структурным и функциональным изменениям эритроцитарных мембран — повышающим ригидность липидного бислоя изменениям фосфолипидного и жирнокислотного состава, а также ускорению Na^+H^+ амилорид-зависимого транспорта.

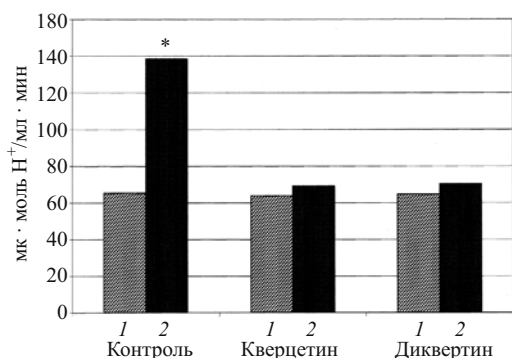


Рис. 3. Влияние флавоноидов на скорость амилорид-зависимого Na^+/H^+ транспорта через эритроцитарную мембрану мышей при развитии физического перенапряжения.

* — достоверные ($p < 0,05$) различия с исходными значениями.
1 — исходно; 2 — 12-й день ФН.

2. Препараты биофлавоноидов кверцетин и диквертин при их ежедневном внутрижелудочном (100 мг/кг) введении мышам в условиях чрезмерных физических нагрузок оказывают существенный нормализующий эффект в отношении повреждающего влияния физического перенапряжения на химический состав, структу-

ру и функциональную активность эритроцитарных мембран.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Кейтс, *Техника липидологии*, Мир, Москва (1975).
2. В. З. Ланкин, А. Н. Тихадзе, Ю. Н. Беленков, *Свободнорадикальные процессы в норме и при заболеваниях сердечно-сосудистой системы*, Мир, Москва (2000).
3. А. Г. Максина, Н. Н. Микаелян, Ю. А. Князев, *Биофизика*, **37**(2), 306 – 309 (1992).
4. С. Н. Орлов, И. Ю. Постнов, Н. И. Покудин, *Бюл. exper. биол.*, **75**(9), 286 – 288 (1988).
5. Е. А. Рожкова, З. Г. Орджоникидзе, А. Е. Дружинин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **70**(5), 44 – 47 (2007).
6. Р. Д. Сейфулла, *Спортивная фармакология*, ИПК Московская правда, Москва (1999).
7. Р. Д. Сейфулла, З. Г. Орджоникидзе, Е. А. Рожкова, *Лекарства и БАД в спорте*, Литтерра, Москва (2003).
8. Р. Д. Сейфулла, Е. А. Рожкова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **72**(3), 60 – 64 (2009).
9. И. С. Типикин, Е. А. Рожкова, Р. Д. Сейфулла, В. В. Панюшкин др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(10), 26 – 30 (2011).
10. S. U. Persson, G. Wohlfort, H. Larsson, et al., *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **56**, 183 – 190 (1996).
11. V. E. Vaskovsky, *J. Chromatogr.*, **114**, 129 – 141 (1975).

Поступила 12.02.13

USAGE OF FLAVONOIDS FOR EFFECTIVE CORRECTION OF FUNCTIONAL AND STRUCTURAL BREACHES OF ERYTHROCYTES MEMBRANES DURING AN EXTRAORDINARY PHYSICAL STRAIN IN EXPERIMENTS

V. V. Panyushkin, E. A. Rozhkova, E. A. Turova, R. D. Seifulla, A. S. Gozulov, Yu. M. Kuznetsov

Laboratory of Clinical Pharmacology and Doping Control, Moscow Research Center of Sport Medicine, ul. Zemlyanoi Val 53, Moscow, 107120, Russia

The effect of treatment course of bioflavonoids quercetin and diquertin on phospholipids and fatty acid composition of erythrocytes membranes and amilorid-dependent activity Na^+/H^+ transmembrane exchanger of erythrocytes have been studied in condition of chronic physical tension in mice in consequence of extraordinary running strain. The studied drugs actively prevented from the changes of chemical composition and as a result structural and functional changes of erythrocytes membranes. It is established that the studied bioflavonoids prevented from the development of extraordinary physical strain syndrome.

Keywords: bioflavonoids; physical strain; erythrocytes membranes; phospholipids and fatty acid composition; Na^+/H^+ exchanger.