

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «ЭКДИФИТ» НА ОБЩУЮ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ТКАНЕЙ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ У КРЫС

Аннотация. В статье представлены данные по влиянию препарата «Экдифит» на протеолитическую активность тканей в условиях острой гипоксии. Показано более выраженное повышение уровня протеолитической активности тканей печени, по сравнению с тонкой кишкой через 1 сутки после гипоксического стресса. На 3 и 8 сутки после гипоксии и действия «Экдифита» отмечено снижение этого показателя в обоих органах. Делается вывод о выраженном антиоксидантном эффекте «Экдифита».

Ключевые слова: гипоксия, экдифит, протеолитическая активность, печень, кишка.

© Sh. K. Bakhtyarova, B.I. Zhaksymov, Z.T. Shulgau.*

RSE «Institute of Human and Animal Physiology» of SC of MES of RK

**JSC «International Scientific-Technical Holding "Phytochemistry"»*

Almaty, Kazakhstan

THE EFFECT OF "EKDIFIT" PREPARATION UPON THE TISSUES TOTAL PROTEOLYTIC ACTIVITY AT ACUTE HYPOXIA IN RATS

Abstract. The paper presents the data concerning the effect of "Ekdifit" preparation upon the tissue proteolytic activity during acute hypoxia. A more expressed elevation in liver tissue proteolytic activity when compared with intestine was determined in 1 day after hypoxic stress. On the 3d and 8th days after the effect of hypoxia and "Ekdifit" preparation the decrease in this index in both the tissues was noted. The conclusion about the presence of antioxidant effect of "Ekdifit" is made.

Key words: hypoxia, Ekdifit, proteolytic activity, liver, intestine.

Введение. В связи с ростом соматической заболеваемости и воздействием внешних факторов (психогенных, социальных) на организм значительно ухудшились адаптационные возможности организма в ответ на стрессовые ситуации. Поэтому применение эффективных и безопасных лекарственных средств, воздействующих на механизмы адаптации, позволит

улучшить течение и прогноз различных заболеваний. На смену традиционным синтетическим средствам анаболического действия пришли препараты природного происхождения. Препараты растительного происхождения обладают низкой токсичностью, отсутствием фазы отрицательного последействия и привыкания даже при длительном применении [1]. Перед современной медициной остро стоит вопрос разработки, создания и внедрения новых более эффективных и более доступных лекарственных средств для лечения наиболее распространенных в нашей республике заболеваний.

Экдистероидсодержащая фракция лекарственного растения серпуха венценосная (*Serratulla coronata* L.), разработанная в АО Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» (г.Караганды), получившая название «Экдифит», обладает, как было показано ранее в эксперименте и в клинике, мощным анаболическим эффектом. Экдифит рекомендован для применения после тяжелых травм, операций, ожогов, при нарушении белкового обмена при кахексиях различного генеза, при хронических заболеваниях, сопровождаемых потерей белка. Однако данный препарат возможно обладает антигипоксическим восстанавливающим эффектом, что может расширить область его применения.

Гипоксия – распространенное состояние, возникающее как в условиях недостаточности кислорода во вдыхаемом воздухе, так и вследствие самых различных патологических процессов и являющимся стрессовым состоянием для организма. Развитие и проявление кислородной недостаточности в организме могут варьировать в зависимости от этиологии, степени, скорости развития и продолжительности гипоксического состояния, что приводит к снижению доставки кислорода к тканям, нарушению метаболизма и структуры клеток, а также адсорбционно-транспортных свойств эритроцитов [2].

Для выявления эффекта применения препарата «Экдифит» в условиях гипоксического стресса было проведено исследование состояния общей протеолитической активности тканей печени и кишечника, так как активность протеолитических ферментов отражает состояние антиоксидантной защиты организма, основная задача которых – освобождение внутренней среды от конформационно измененных под влиянием гипоксии белков, накопление которых может сопровождаться развитием патологий [3, 4, 5].

Материал и методы исследования. Исследование проводили на 62 белых беспородных лабораторных крысах (200-300 г.). Эксперименты с животными проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных». Крысам вводили при помощи зонда через желудочно-кишечный тракт 1% крахмальный клейстер с экдифитом из расчета 100 мг/кг в течение 14 суток. Экдифит использовали в виде гранул и субстанции. В качестве холостой пробы животным давали 1% раствора крахмала без экдифита. На 14 сутки крыс помещали в стеклянные закрытые сосуды на 1,5 час. К концу эксперимента газовая среда содержала 8% O₂, что эквивалентно подъему на высоту 6000 м без кислородного прибора. Для создания условий «чистой» гипоксии, выдыхаемая животными углекислота поглощалась гранулированной NaOH. Затем животных изымали из камер и брали на острый эксперимент сразу в 1 сутки, 3 сутки и 8 сутки после гипоксии. Наркоз – ингаляция эфира. Для взятия у животных образцов печени и кишок по белой линии живота вскрывали брюшную полость, отпрепаровывали и вырезали органы. Промывали охлажденным физиологическим раствором ткани для удаления из нее остатков крови. Выделенные кусочки тканей помещали в охлажденный физиологический

раствор, после чего на холоду их очищали, удаляя соединительную ткань. Уровень общей протеолитической активности (ОПА) гомогенатов печени и стенки тонкой кишки определяли с использованием для осаждения белков этилового спирта [6]. Калибровочную кривую строили с использованием аминокислоты фенилаланин и полученные данные выражали в мкг Фенилаланина (Фен) на 1 г ткани (для гомогенатов) на 1 час инкубации. Контроль – протеолитическая активность проб без инкубации.

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel и изменения параметров с учетом непарного критерия Фишера-Стьюдента считали достоверными при $p \leq 0.05$.

Результаты исследований. Контрольные исследования показали, что уровень общей протеолитической активности гомогената печени составляет $409,21 \pm 25,07$ мкгФен/г×час, а уровень общей протеолитической активности гомогената кишки $823,09 \pm 48,67$ мкгФен/г×час. После 14 суток введения через желудочно-кишечный тракт фитопрепарата Экдифит были выявлены незначительные изменения уровня общей протеолитической активности клеток печени, но выраженное снижение на 58-68% общая протеолитическая активность стенки тонкой кишки (таблица).

Таблица

Показатели общей протеолитической активности клеток печени и стенки тонкого кишечника после 14 суток приема Экдифит

Опыт	общая протеолитическая активность кишечника (мкгФен/г×час)	общая протеолитическая активность печени (мкгФен/г×час)
контроль	$823,09 \pm 48,67$	$409,21 \pm 25,07$
Экдифит - гранулы	$563,25 \pm 52,00^{*68}$	$404,17 \pm 7,51^{*}$
Экдифит - субстанция	$481,78 \pm 1,73^{*58}$	$362,17 \pm 1,15$
* $p < 0.01$ – между группами		

При этом следует отметить, что после приема Экдифита в виде гранул снижение уровня общей протеолитической активности гомогенатов

кишечной стенки было менее выражено, чем после введения Экдифита в виде субстанции (рис. 1).

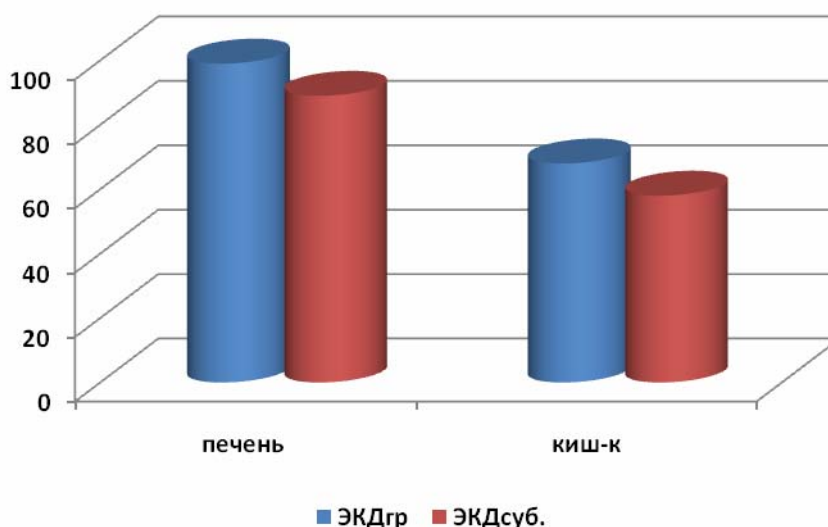


Рис. 1. Изменение уровня ОПА печени и кишечной стенки (контроль -100%) у крыс после 14 суток кормления гранулированным Экдифитом (ЭКДгр.) и Экдифитом в виде субстанции (ЭКДсуб.)

Таким образом, после 14 суток кормления животных Экдифитом, как гранулами, так и в виде субстанции общая протеолитическая активность кишечника у крыс снизилась почти на 42%, в то время как понижение общая протеолитическая активность печени не превышало 10-12% по сравнению с контрольными данными ($p < 0.001$).

Результаты исследований состояния общей протеолитической активности клеток печени и стенок кишечника у интактных крыс после острой гипоксии показали снижение протеолиза в печени на 14%, в стенках кишечника – на 27% ($p < 0.001$).

Эффект сочетанного действия фитопрепарата Экдифит и кратковременного гипоксического стресса на активность протеиназ исследовали на протяжении 8 суток.

Было выявлено, что на протяжении первых суток протеолитическая активность печени возрастала на 15-20% по сравнению с контролем, но в последующие 3-и и 8-е сутки показатели общей протеолитической

активности снизились и составляли только 50% и 20% от контрольных значений ($p < 0.001$).

Исследование общей протеолитической активности стенок кишечника животных, принимавших на протяжении 14 суток Экдифит и затем подвергнутых острой гипоксии, показало снижение общей протеолитической активности на 10-50% по сравнению с контрольными данными. Прослеживалась следующая тенденция – в первые сутки после гипоксии протеолитическая активность в кишечнике снизилась на 10%, на 3-и сутки – снижение достигало 50% и более ($p < 0.001$), на 8-е сутки – активность протеолитических процессов в кишечнике несколько увеличилась, но была ниже контрольных значений на 30-35% (рис. 2).

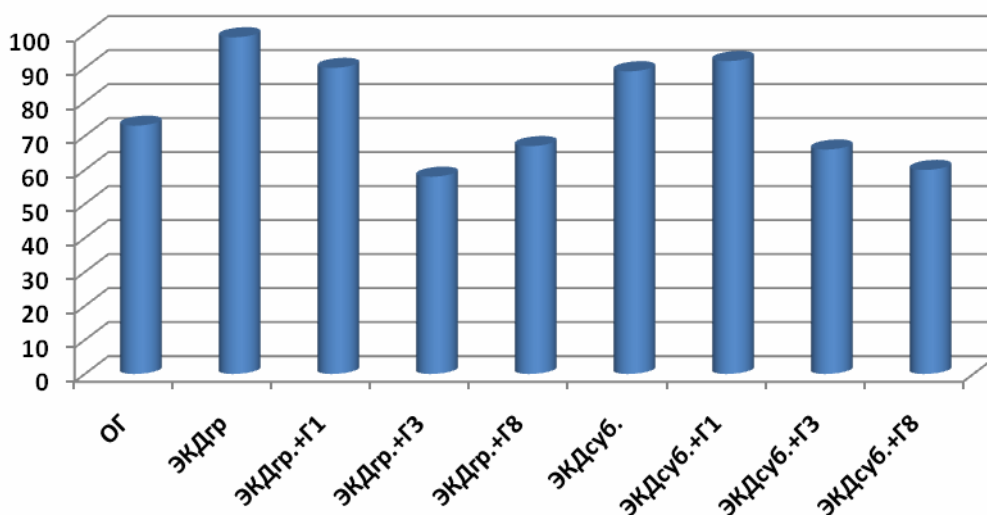


Рис. 2. Динамика изменений общей протеолитической активности стенки кишечника (%) у животных, принимавших Экдифит (ЭКД), на 1,3 и 8 сутки после острой гипоксии

Обозначения: ОГ – данные ОПА после острой гипоксии, полученные у животных, не принимавших Экдифит, ЭКДгр, ЭКДгр+Г1 и т.д. – данные группы животных, принимавших Экдифит гранулированный или в виде субстанции на 1,3 или 8 сутки после гипоксии

Исходя из полученных данных, следует, что общая протеолитическая активность кишечника у животных остается на 30-40% ($p < 0.001$) ниже контрольного уровня на 3 и 8 сутки после острой гипоксии, что отражает ингибиторный эффект Экдифита на стенку кишечника.

Таким образом, в проведенных опытах показаны изменения уровня общей протеолитической активности различных тканей у крыс при действии фитопрепарата Экдифит на фоне гипоксии: повышение активности протеолитической активности в печени через 1 сутки после гипоксического стресса, последующее снижение – в гомогенатах тонкой кишки и печени через 3 и 8 сутки.

В связи с тем, что в тканях кишечника ферментативная активность протеолиза была ниже контрольных значений, следует, что и гипоксия, и применение Экдифита на фоне гипоксии снижает выработку ферментов в кишечнике. В первые сутки после гипоксии резко увеличивается ферментативная активность клеток печени, но в последующем активность печени и кишечника снижается ниже контрольных значений, что отражает низкий уровень окислительного стресса на клеточном уровне. Вероятная причина этого – выраженный антиоксидантный эффект Экдифита, приводящий к нормализации функции печени.

Выводы

Исследование активности протеолиза печени и кишечника у животных, подвергнутых острой гипоксии на фоне приема на протяжении 14 суток фитопрепарата Экдифит, показало повышение ферментативной активности печени на фоне ингибирования протеолитических процессов в стенке кишечника на 1 сутки после гипоксии, с последующим снижением протеолитической активности через 3 и 8 сутки после гипоксического стресса, что подтверждает выраженный антиоксидантный эффект фитопрепарата.

Список литературы:

1. *Кусаинова Д.Д., Карилхан И. Актопротектор «Экдифит» и его фармакологические показатели //Фармация Казахстана, специальный выпуск. – 2005. – С. 41–42.*

2. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии // Патол. физиол. и эксперим. Терапия. – 2004. – № 2. – С. 3–11.

3. Aksentsev S.L., Samoilenko S.G., Kaler G.V., Konev S.V. Effect of proteolysis on the state of lipid phase in rat brain synaptosomal membranes // Arch. Biochem. Biophys. – 1995. – V. 316, N 1. – P. 47–51.

4. Локина Л.А. Протеиназы плазматической мембраны лимфоидных клеток и их биологические функции // Биоорг.химия. – 1998. – Т.24, № 5. – С. 323–331.

5. Колбай И.С. Про- и антиоксидантный потенциал лимфатической системы в «норме» и при действии экстремальных факторов // Актуальные проблемы современной физиологической науки: матер. международной научной конф., посвящ.100-летию со дня рожд.д.б.н., проф., засл.деятеля науки РК Авазбакиевой М.Ф. – Вестник КазНУ. Сер. биол. – 2007. – № 4(34). – С. 66–69.

6. Kolbay I.S., Seitkulova L.M. Level of total proteolytic activity in rat intestinal lymph, lymph nodes, and lymphocytes // Acta Medica et Biologica (Japan). – 2002. – V.50, N 3. – P. 111–116.

Бахтиярова Ш.К. – заведующая лаборатории экологической физиологии, РГП «Институт физиологии человека и животных» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы, 005060, пр. аль-Фараби, 93, e-mail: bifara.66@mail.ru.

Жаксымов Болат Исаулы – младший научный сотрудник лаборатории экологической физиологии, РГП «Институт физиологии человека и животных» КН МОН РК, Казахстан, г. Алматы, 005060, пр. аль-Фараби 93, e-mail: bolat_kaz@inbox.ru

Шульгау Зарина Токтамысовна – к.м.н., заведующая лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии, АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», E-mail: zarina4006@mail.ru 100017, Казахстан, г. Караганда, сл. тел.: 8 (7212) 43-67-41,