

В.П. Куликов, И.А. Чупикова, Е.М. Санаров, Н.Л. Волобой

Увеличение резистентности к гипоксии под влиянием сбора из лекарственных растений Алтая

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 656038, Алтайский край, Барнаул, пр. Ленина, 40

В эксперименте на крысах исследовали антигипоксический эффект сбора из лекарственных растений Алтая «Вазофит», содержащий флавоноиды и обладающий антиоксидантными, противовоспалительными, спазмолитическими, ангиопротекторными и антиагрегантными свойствами. Животные получали отвар из трав через желудочный зонд курсами продолжительностью 3, 7, 14 и 21 день. Резистентность к острой гипобарической гипоксии оценивали по времени жизни животных при моделировании подъема на высоту 11500 м над уровнем моря. Значимый антигипоксический эффект наблюдался у крыс, которые принимали отвар в течение 21 дня. Менее продолжительные сроки были не эффективны.

Ключевые слова: резистентность к гипоксии, флавоноиды, фитотерапия

V.P. Kulikov, I.A. Chupikova, E.M. Sanarov, N.L. Voloboy

Increased resistance to hypoxia under the effect of the mixture of herbs from the Altai

Altay State Medical University, 40, Lenina street, Barnaul, 656038, Russia

We investigated the antihypoxic effect of herb mixture «Vasofit» from the Altai in an experiment with rats. This mixture of herbs contains bioflavonoids. Also, it has antioxidant, anti-inflammatory, antispasmodic, angioprotective and antiplatelet properties. The animals received decoction of herbs into the stomach through a tube. Courses lasted 3, 7, 14 and 21 days. Resistance to acute hypobaric hypoxia evaluated by time of animal life in modeling rise to a height of 11,500 meters above sea level. In result, a significant antihypoxic effect was observed in rats treated with decoction of herbs for 21 days. Shorter courses of treatment were not effective.

Key words: resistance to hypoxia, bioflavonoid, herbal medicine

Широкое применение для профилактики и лечения нарушений мозгового кровообращения нашел препарат из растения гинкго билоба [21]. Стандартный экстракт из листьев гинкго билоба содержит флавоноиды и терпеноиды. Флавоноиды инактивируют свободные радикалы, защищая, таким образом, клетки от повреждения при ишемии. Было обнаружено, что гинкго билоба значительно ингибирует выход цитохрома С из митохондрий, экспрессию каспазы-3 и ослабляет апоптоз [23]. В одном из рандомизированных плацебоконтролируемых исследований было продемонстрировано, что экстракт гинкго билоба улучшает как центральную гемодинамику, так и перфузию тканей [16].

Однако гинкго билоба является реликтовым растением, которое в естественных условиях произрастает только в двух небольших районах на востоке Китая [2]. Существенным потенциалом в этом направлении обладает флора Алтайского края и горного Алтая.

Антигипоксические, антиоксидантные, ангиопротекторные, спазмолитические и антикоагулянтные свойства алтайских растений широко используются для профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы. Протективные эффекты растительных экстрактов в целом обусловлены входящими в их состав полифенолами, а именно флавоноидами и кумаринами [14, 25]. Вышеперечисленные свойства лекарственных растений могут использоваться не только при лечении кардиоваскулярных заболеваний, но и быть потенциально эффективными для повышения толерантности мозга к гипоксии/ишемии.

Цель исследования — разработка сбора из Алтайских трав и проверка его влияния на развитие резистентности к острой гипобарической гипоксии в эксперименте у крыс.

Методика

Совместно с кафедрой фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО АГМУ был разработан сбор из нескольких лекарственных трав, произрастающих на территории Алтайского края и Горного Алтая, в кото-

Для корреспонденции: Куликов Владимир Павлович, д-р мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России. E-mail: kulikov57@mail.ru

рой были включены аронии черноплодной плоды, лабазника вязолистного трава, боярышника цветы и плоды, клевера лугового трава, ромашки аптечной цветки, мяты перечной лист, шиповника плоды, манжетки обыкновенной лист. Сбор получил наименование «Вазофит». При разработке травяного сбора исходили из комплексного фармакологического действия флавоноидов, входящих в состав лекарственных растений. При этом ориентировались на основные эффекты используемых лекарственных трав, которые потенциально могут быть эффективны для повышения резистентности к гипоксическому/ишемическому повреждению клеток. Из сбора готовили отвар в соотношении 1:10 согласно методике Государственной фармакопеи XI издания.

Исследование действия лекарственного сбора проведено на 100 белых крысах-самцах линии Wistar, массой $141,4 \pm 26,2$ г. Линия животных была выращена в виварии НИИ Цитологии и генетики СО РАН (г.Новосибирск). Крысам 1-й, 3-й, 5-й и 7-й групп вводили через зонд в желудок 1 мл отвара, в течение трёх, семи, 14 и 21 суток соответственно. Животным 2-й, 4-й, 6-й и 8-й групп в аналогичные сроки вводили в желудок кипяченую воду в том же объеме (контроль). Масса тела животных контрольных и экспериментальных групп были сопоставимы. Крысы содержались в стандартных условиях вивария в клетках [3].

На следующие сутки после последнего введения определяли резистентность к острой гипобарической гипоксии. Гипобарическую гипоксию моделировали с помощью специальной барокамеры, в которой с помощью вакуумного электронасоса создавали необходимое разрежение воздуха, соответствующее «высоте» 11 500 м над уровнем моря. Скорость «подъема» животных составляла 100 м/с. Такая скорость является наиболее оптимальной, так как при ней нагрузка на нервную и сердечно-сосудистую системы распределяется равномерно [1].

В процессе моделирования острой гипоксии у животного регистрировали время потери позы (ВПП) и время жизни (ВЖ). ВПП — период от момента достижения критической высоты до момента утраты животным способности сохранять нормальную позу. ВЖ — период от момента достижения критической высоты до появления у животного второго агонального вдоха.

Статистическая обработка полученного материала проводилась с использованием программы «Statistica» v.6.0. При обработке результатов применяли непараметрический критерий Манна—Уитни, так как значения исследуемых параметров не подчинялись нормальному распределению. Для оценки нормальности распределения использовали критерий Шапиро—

Уилка. При сравнении групп был принят допустимый уровень значимости заключений о достоверности различий $p < 0,05$.

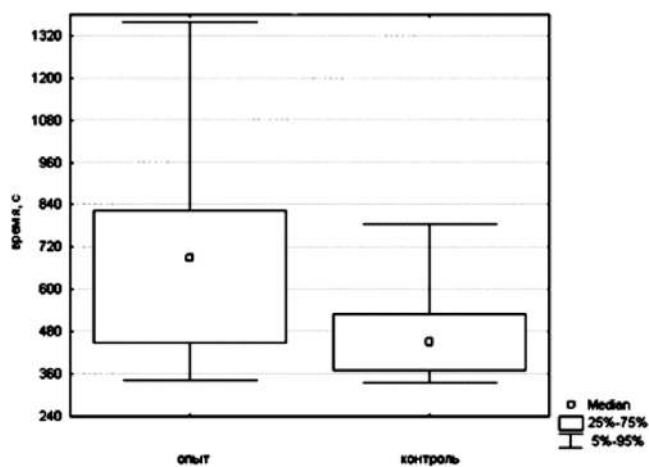
Крысы в экспериментах использовались в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте [8]. Методика эксперимента и моделирования острой гипобарической гипоксии на лабораторных животных была одобрена локальным этическим комитетом АГМУ.

Результаты и обсуждение

При 3, 7 и 14 сут. введении отвара из трав показатели ВПП и ВЖ между контрольной и опытной группой значимо не различались.

Значимый антигипоксический эффект наблюдался у крыс, которым вводили отвар из трав в течение 21 сут. (рисунок). Из рисунка видно, что время жизни крыс, которым вводили отвар из трав в течение 21 сут., в среднем было в 1,5 раза дольше по сравнению с контрольной группой. При этом время потери позы в опытной и контрольной группах значимо не различалось.

Полученные данные свидетельствуют о том, что исследуемый сбор трав увеличивает резистентность животных к гипоксии при его применении в течение 21 сут. Данный эффект может быть обусловлен флавоноидами, входящими в состав используемых нами растений. Нейропротекторное действие флавоноидов включает ряд эффектов в пределах головного мозга, в том числе потенциальное защитное действие от повреждения и способность подавлять развитие воспалительной реакции в нервной ткани.



Время жизни животных в условиях острой гипобарической гипоксии при 21-дневном введении отвара из Алтайских трав ($p=0,02$)

Эти эффекты основываются на двух процессах [25]. Во-первых, флавоноиды взаимодействуют с сигнальными каскадами в нейронах, что приводит к ингибированию апоптоза и повышению выживаемости нейронов. Эти взаимодействия включают селективное воздействие на протеинкиназы и липидкиназы, в первую очередь PI3K/Akt и MAP-киназные пути, которые регулируют реализацию факторов транскрипции и экспрессию генов. Во-вторых, флавоноиды индуцируют ангиогенез и усиливают периферический и церебральный кровоток [25].

Было выявлено также [10], что предварительное введение флавоноида — апигенина ингибирует ФНО-индукцию интерлейкина 6, интерлейкина 8 и простагландина E2. Подавление этих параллельных цитокининдуцированных путей, включающих в себя синтез и высвобождение хемокинов и производных арахидоновой кислоты, может способствовать уменьшению лейкоцитарной инфильтрации и отека. Кроме того, было обнаружено, что флавоноиды ингибируют агрегацию тромбоцитов, подавляя циклооксигеназный путь [13]. При изучении синергетического действия флавоноидов было также выявлено, что сочетание катехина и кверцетина вызывает снижение коллаген-индуцированной продукции перекиси водорода, выхода кальция и образование 1,3,4-инозитолтрифосфата, что, в свою очередь, обуславливает снижение агрегации тромбоцитов [18].

Современные исследования эффектов экстракта боярышника на экспериментальной модели инсульта показывают, что его флавоноиды, а именно олигомеры проантоцианидов снижают выход провоспалительных цитокинов, экспрессию молекул межклеточной адгезии, а также воспалительную реакцию и инфильтрацию лейкоцитами в очаге ишемии [7]. Флавоноиды содержащиеся в растениях травяного сбора ингибируют ЦОГ-2, снижают синтез простагландина E2 и уменьшают экссудацию при воспалении [15, 26].

Важную роль в защите нервных клеток от повреждения играет состояние сосудистой системы, а также системы гемостаза. Витамины С и Р, содержащиеся в боярышнике и шиповнике оказывают капилляроукрепляющее действие [5, 12, 20], а флавоноиды ромашки и мяты обуславливают спазмолитический эффект [11, 16]. Экстракт плодов черноплодной рябины удлиняет время свертывания крови и снижает скорость полимеризации фибрина [4].

Развитие компенсаторных реакций при гипоксии во многом зависит от состояния и функционирования эритроцитов. Флавоноиды содержащиеся в манжетке способствуют увеличению концентрации фосфолипидов в мембранах эритроцитов и снижают число аномальных эритроцитов у крыс с артериальной гипертензией [19].

Также эффективность травяного сбора может быть связана с антиоксидантным действием флавоноидов, которые содержатся в листьях, ягодах и соцветиях боярышника, цветках ромашки, листьях лабазника, манжетки и мяты перечной [5, 9, 12, 16, 17, 20, 22, 24]. К тому же смесь процианидинов, антоцианов и фенольных кислот, содержащихся в черноплодной рябине, является одним из самых мощных природных антиоксидантов [6].

Принимая во внимание все вышеперечисленные эффекты флавоноидов и результаты нашего исследования, можно сделать вывод, что созданный нами сбор из лекарственных растений Алтая «Вазофит», существенно повышает резистентность к острой гипоксии и обладают свойствами потенциально эффективными для коррекции гипоксического/ишемического повреждения.

Список литературы

1. *Агаджанян Н.А.* Организм и газовая среда обитания. — М.: Медицина, 1972. — 247 с.
2. Жизнь растений. В 6 тт. / Гл. ред. Фёдоров А.А. — М.: Просвещение, 1978. — Т. 4. Мхи. Плауны. Хвощи. Папоротники. Голосеменные растения / Под ред. И.В. Грушвицкого и С.Г. Жилина. — 447 с.
3. *Западнюк И.И., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В.* Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. — 3-е изд-е, перераб. и доп. — Киев: Вища школа, 1983. — 383 с.
4. *Bijak M., Bobrowski M., Borowiecka M.* et al. Anticoagulant effect of polyphenols-rich extracts from black chokeberry and grape seeds // *Fitoterapia*. — 2011. — Vol. 82(6). — P. 811–817
5. *Cesarone M.R., Belcaro G., Ricci A.* et al. Prevention of edema and flight microangiopathy with Venoruton (HR), (0-[beta-hydroxyethyl]-rutosides) in patients with varicose veins // *Angiology*. — 2005. — Vol. 56(3). — P. 289–293.
6. *Chrubasik C., Li G., Chrubasik S.* The clinical effectiveness of chokeberry: a systematic review // *Phytoter. Res.* — 2010. — Vol. 24(8). — P. 1107–1114.
7. *Elango C., Devaraj S.N.* Immunomodulatory effect of Hawthorn extract in an experimental stroke model // *J. Neuroinflammation*. — 2010. — 7:97.
8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. — Strasburg: Council of Europe. — 1986. — 48 p.
9. *Fecka I.* Qualitative and quantitative determination of hydrolysable tannins and other polyphenols in herbal products from meadowsweet and dog rose // *Phytochem. Anal.* — 2009. — Vol. 20(3). — P. 177–190.
10. *Gerritsen M.E., Carley W.W., Ranges G.E.* et al. Flavonoids inhibit cytokine-induced endothelial cell adhesion protein gene expression // *Am. J. Pathol.* — 1995. — Vol. 147(2). — P. 278–292.
11. *Kligler B., Chaudhary S.* Peppermint oil // *Am. Fam. Physician*. — 2007. — Vol. 75(7). — P. 1027–1030.
12. *Laemmel E., Stucker O., Pons C.* et al. Microcirculatory consequences of a venous striction in the rat. Effect of a coumarine-rutine association // *J. Mal. Vasc.* — 1998. — Vol. 23(3). — P. 176–182.

13. **Landolfi R., Mower R.L., Steiner M.** Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids: Structure-activity relations // *Biochemical Pharmacology*. — 1984. — Vol. 33(9). — P. 1525–1530.

14. **Maher P., Salgado K.F., Zivin J.A., Lapchak P.A.** A novel approach to screening for new neuroprotective compounds for the treatment of stroke // *Brain Res.* — 2007. — Vol. 1173. — P. 117–125.

15. **Nesterova Iu.V., Povet'eva T.N., Aksinenko S.G.** et al. Evaluation of anti-inflammatory activity of extracts from Siberian plants // *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.* — 2009. — Vol. 11. — P. 30–34.

16. **O'Hara M., Kiefer D., Farrell K., Kemper K.** A Review of 12 Commonly Used Medicinal Herbs // *Arch. of fam. med.* — 1998. — Vol. 7(6). — P. 523–536.

17. **Oktyabrsky O., Vysochina G., Muzyka N.** et al. Assessment of anti-oxidant activity of plant extracts using microbial test systems // *J. Appl. Microbiol.* — 2009. — Vol. 106(4). — P. 1175–1183.

18. **Pignatelli P., Pulcinelli F.M., Celestini A.** et al. The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2000. — Vol. 72(5). — P. 1150–1155.

19. **Plotnikov M.B., Aliev O.I., Andreeva V.Y.** et al. Effect of *Alchemilla vulgaris* extract on the structure and function of erythrocyte membranes during experimental arterial hypertension // *Bull. Exp. Biol. Med.* — 2006. — Vol. 141(6). — P. 708–7011.

20. **Salminen J.P., Karonen M., Lempa K.** et al. Characterisation of proanthocyanidin aglycones and glycosides from

rose hips by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, and their rapid quantification together with vitamin C // *J. Chromatogr. A.* — 2005. — Vol. 1077(2). — P. 170–180.

21. **Shah Z.A., Nada S.E., Dore S.** Heme oxygenase 1, beneficial role in permanent ischemic stroke and in *Ginkgo biloba* (EGb 761) neuroprotection // *Neuroscience.* — 2011. — Vol. 180. — P. 248–255.

22. **Sharafi S.M., Rasooli I., Owlia P.** et al. Protective effects of bioactive phytochemicals from *Mentha piperita* with multiple health potentials // *Pharmacogn. Mag.* — 2010. — Vol. 6(23). — P. 147–153.

23. **Shen J., Lee W., Gu Y.** et al. *Ginkgo biloba* extract (EGb761) inhibits mitochondria-dependent caspase pathway and prevents apoptosis in hypoxia-reoxygenated cardiomyocytes // *Chinese Medicine.* — 2011. — 6–8.

24. **Smirnova G.V., Vysochina G.I., Muzyka N.G.** et al. The antioxidant characteristics of medicinal plant extracts from Western Siberia // *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* — 2009. — Vol. 45(6). — P. 705–709.

25. **Spencer J.P.** Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms // *Genes Nutr.* — 2009. — Vol. 4(4). — P. 243–250.

26. **Srivastava J.K., Pandey M., Gupta S.** Chamomile, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory activity // *Life Sci.* — 2009. — Vol. 85(19–20). — P. 663–669.

Поступила 27.04.12

Сведения об авторах:

Чупикова Ирина Александровна, аспирант каф. патофизиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России

Санаров Евгений Максимович, канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России

Волобой Нина Леонидовна, зав. лаб. каф. фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России