

Новые фитопрепараты с церебропротективным эффектом

Буркова В.Н.¹, Венгеровский А.И.¹, Суслов Н.И.², Кайгородцев А.В.¹, Насанова О.Н.¹, Яценков А.И.¹, Гришина Е.И.³, Мелик-Гайказян Е.В.¹, Фисанова Л.Л.¹

New plant agents with cerebroprotective effect

Burkova V.N., Vengerovsky A.I., Suslov N.I., Kaigorodtsev A.V., Nasanova O.N., Yatsenkov A.I., Grishina Ye.I., Melik-Gaikazyan Ye.V., Fisanova L.L.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² НИИ фармакологии СО РАМН, г. Томск

³ Омская государственная медицинская академия, г. Омск

© Буркова В.Н., Венгеровский А.И., Суслов Н.И. и др.

Экстракт лабазника обыкновенного в большей степени, чем экстракт валерианы, улучшает в головном мозге белых крыс кинетические характеристики дыхательной активности митохондрий, увеличивает сопряженность субстратного окисления с фосфорилированием при экспериментальной постгипоксической энцефалопатии. Экстракт крапивы двудомной эффективнее силибинина повышает в головном мозге белых крыс скорость утилизации субстратов цикла Кребса, сопряженность окислительного фосфорилирования при модели ингибирования β -окисления жирных кислот, вызванного 4-пентеновой кислотой. Экстракты лабазника и крапивы оказывают выраженное антиоксидантное действие.

Ключевые слова: экспериментальные постгипоксическая энцефалопатия и ингибирование β -окисления жирных кислот, митохондрии головного мозга, перекисное окисление липидов, экстракты лабазника обыкновенного, крапивы двудомной и валерианы.

The meadowsweet (*Filipendula vulgaris*) extract in a greater degree, than valerian extract improves in albino rat's brain the kinetic characteristics of mitochondrion respiratory activity, increases the association of substrate oxidation with ADP phosphorylation in experimental posthypoxic encephalopathy. The nettle (*Urtica dioica*) extract increases in albino rat's brain the rate of cycle Krebs substrate utilization and oxidative phosphorylation coupling in experimental inhibition of fatty acids β -oxidation caused with 4-pentenoic acid. The meadowsweet and nettle extracts possess the expressed antioxidant effect.

Key words: experimental posthypoxic encephalopathy and inhibition of fatty acids β -oxidation, brain mitochondrion, lipoperoxidation, meadowsweet and nettle extracts.

УДК 615.322:615.21.038

Введение

Кафедра фармакологии Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ, г. Томск) является известным центром по изучению лекарственных растений Сибири. Исследования в этом направлении ведутся со времени открытия в 1888 г. Императорского Томского университета. Интенсивнее они развернулись после 1917 г. и особенно в годы Великой Отечественной войны, когда наша страна испытывала острую потребность в лекарственном сырье. В 1947 г. фармаколог Н.В. Вершинин, ботаник В.В. Ревердатто и терапевт Д.Д. Яблочков были удостоены Государственной (Сталинской)

премии II степени «за разработку методов извлечения новых лечебных препаратов из лекарственных растений Сибири и внедрение их в практику здравоохранения». В 1950—2000 гг. лечебное действие сибирских растений изучали профессора Е.М. Думенова, А.С. Саратиков, Л.А. Усов, доценты Т.Ф. Марина, Л.П. Алексеева, Л.И. Желнович, В.П. Агаркова [1]. В настоящее время сотрудники кафедры исследуют фармакологические свойства гепатопротекторов, психотропных, антиэстрогенных, сахароснижающих средств растительного происхождения. Фитопрепараты эффективны для профилактических целей и лечения нетяжелых хронических заболеваний. Зачастую они вызывают большее доверие

у пациентов, что является важным фактором, определяющим успех терапии.

В данной статье приведены результаты выполненных в последние годы на кафедре фармакологии СибГМУ исследований влияния на биоэнергетику головного мозга нового противотревожного средства — экстракта лабазника обыкновенного и антиоксидантного средства — экстракта крапивы двудомной.

Материал и методы

Сухие экстракты получали из надземной части лабазника обыкновенного (*Filipendula vulgaris*, сем. *Rosaceae*) и крапивы двудомной (*Urtica dioica* L., сем. *Urticaceae*). Растения заготавливали в экологически чистом районе Томской области. Измельченное воздушно-сухое сырье настаивали на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин при температуре 80 °С. Соотношение сырья и дистиллированной воды составляло 1 : 15. Экстракцию проводили трехкратно, после чего объединяли полученные порции и удаляли экстрагент при температуре не выше 60 °С. В надземной части лабазника суммарное количество флавоноидов составляло $(1,71 \pm 0,12)\%$. Надземная часть крапивы содержала $(78,0 \pm 6,0)$ мг% каротиноидов в пересчете на β -каротин и $(0,0128 \pm 0,002)$ мкмоль/г хлорофилла в пересчете на хлорофилл *a*.

Эксперименты проводили на 80 аутбредных белых крысах-самцах массой 200—220 г, выращенных в конвенциональных условиях в клинике лабораторных животных НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск). Энерготропные эффекты экстракта лабазника изучали при экспериментальной энцефалопатии, вызванной у крыс гипоксией головного мозга, влияние экстракта крапивы исследовали при энцефалопатии, развивающейся при интоксикации ингибитором β -окисления жирных кислот — 4-пентеновой кислотой. Исследования выполняли в соответствии с рекомендациями руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств [5].

Постгипоксическую энцефалопатию моделировали помещением крыс в гермокамеру объемом 3 л до появления первого агонального вдоха, после чего животных извлекали и обеспечивали им свободное дыхание [7]. Начиная с 14-х сут после гипоксической травмы крысам в течение 5 сут вводили в желудок в водных растворах экстракт лабазника обыкновенного в эффективной

терапевтической дозе 50 мг/кг массы тела, определенной по противотревожной активности в эксперименте с «конфликтной ситуацией», или препарат сравнения — экстракт корня и корневища валерианы («Дальхимфарм», Россия) в той же дозе.

Для ингибирования β -окисления жирных кислот животные в течение 7 сут получали ежедневные внутривенные инъекции 4-пентеновой кислоты (ISN, США) в дозе 20 мг/кг массы тела [13]. С 8-х сут эксперимента на протяжении 14 сут крысам вводили в желудок экстракт крапивы двудомной в дозе 100 мг/кг массы тела в водном растворе или силибинин («Madaus», Германия) в дозе 200 мг/кг массы тела в виде суспензии на 1%-й крахмальной слизи. В этих дозах фитопрепараты оказывают максимальное антиоксидантное действие [2].

Контрольные животные получали растворители препаратов в эквивалентных количествах.

Крыс декапитировали под эфирным наркозом через 12 ч после последнего введения экстрактов или силибинина.

Функциональное состояние митохондрий гомогената головного мозга исследовали полярографическим методом (полярограф «Эксперт-001», Россия) по скорости потребления кислорода в различных метаболических состояниях по Б. Чансу. Рассчитывали скорости потребления кислорода до (V_{4n}), во время (V_3) и после (V_{4o}) цикла фосфорилирования добавленного аденозиндифосфата (АДФ) (50 мкмоль) при окислении эндогенных субстратов, ФАД-зависимого субстрата сукцината (1 ммоль) и НАД-зависимых субстратов малата и глутамата (по 3 ммоль). Вклад ФАД-зависимого дыхания при окислении митохондриями НАД-зависимых субстратов оценивали по изменению скоростей фосфорилирования после добавления ингибитора сукцинатдегидрогеназы (СДГ) малоната (2 ммоль). Для оценки энергетического статуса митохондрий вычисляли коэффициент сопряженности окислительного фосфорилирования (АДФ/О) и время фосфорилирования добавленного АДФ [4]. Интенсивность липопероксидации оценивали по скорости образования малонового диальдегида (МДА) в присутствии инициатора окисления аскорбата, содержанию диеновых конъюгатов и оснований Шиффа [8].

Статистическую обработку результатов проводили методом парных сравнений с использованием непараметрического критерия Вилкоксона—Манна—Уитни при вероятности ошибочного вывода, не превышающей 5% ($p \leq 0,05$) [6]. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее выборочное значение, m — ошибка среднего.

Результаты и обсуждение

Таблица 1

Влияние экстрактов лабазника обыкновенного и валерианы на митохондриальное дыхание и перекисное окисление липидов в гомогенате головного мозга при постгипоксической энцефалопатии ($M \pm m$)

Показатель	Интактные животные	Постгипоксическая энцефалопатия	Постгипоксическая энцефалопатия +	
			экстракт лабазника	экстракт валерианы
Окисление эндогенных субстратов				
V_{4n}	$5,2 \pm 0,6$	$10,2 \pm 0,1^1$	$10,1 \pm 0,3^1$	$9,5 \pm 0,2^{1,3}$
V_3	$14,7 \pm 0,9$	$16,8 \pm 2,0$	$20,1 \pm 1,0^{1,2}$	$19,6 \pm 0,7^1$
V_{4o}	$4,6 \pm 0,2$	$8,1 \pm 0,4^1$	$8,7 \pm 0,4^1$	$10,0 \pm 0,5^{1,3}$
АДФ/О	$2,8 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,2^1$	$2,4 \pm 0,1^1$	$2,5 \pm 0,1$
T_p	$40,5 \pm 2,3$	$41,3 \pm 2,1$	$34,5 \pm 2,0^{1,2}$	$38,3 \pm 1,7$
Окисление сукцината				
V_{4n}	$12,6 \pm 0,6$	$17,4 \pm 1,1^1$	$18,6 \pm 1,0^1$	$15,5 \pm 0,5^{1,3}$
V_3	$26,4 \pm 1,3$	$32,3 \pm 1,7^1$	$37,1 \pm 0,6^{1,2}$	$33,5 \pm 1,2^{1,3}$
V_{4o}	$11,0 \pm 0,8$	$14,2 \pm 0,8^1$	$18,9 \pm 1,9^1$	$15,3 \pm 0,7^{1,3}$
АДФ/О	$1,5 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,1^1$	$2,2 \pm 0,1^1$	$2,0 \pm 0,2^1$
T_p	$39,1 \pm 5,2$	$23,5 \pm 3,3^1$	$20,4 \pm 2,1^1$	$28,0 \pm 1,4^{1,3}$
Окисление малата и глутамата				
V_{4n}	$8,6 \pm 0,1$	$11,1 \pm 0,7^1$	$8,4 \pm 1,6^2$	$12,1 \pm 0,6^{1,3}$
V_3	$23,4 \pm 1,1$	$24,8 \pm 0,9$	$26,8 \pm 1,2^1$	$24,1 \pm 2,0$
V_{4o}	$9,2 \pm 0,4$	$14,5 \pm 1,3^1$	$12,5 \pm 0,6^1$	$13,4 \pm 1,1^1$
АДФ/О	$2,9 \pm 0,2$	$2,4 \pm 0,1^1$	$2,7 \pm 0,1^2$	$2,5 \pm 0,1^1$
T_p	$27,6 \pm 1,0$	$31,5 \pm 1,8^1$	$25,9 \pm 2,2^2$	$31,1 \pm 1,7^{1,3}$
Окисление малата и глутамата в присутствии малоната				
V_{4n}	$10,2 \pm 0,3$	$14,2 \pm 0,1^1$	$11,4 \pm 1,2^2$	$12,1 \pm 0,6^{1,2}$
V_3	$20,7 \pm 0,2$	$18,3 \pm 0,1^1$	$23,8 \pm 0,3^2$	$20,1 \pm 1,3^{1-3}$
V_{4o}	$14,6 \pm 1,3$	$15,4 \pm 0,5$	$16,7 \pm 0,3^1$	$11,4 \pm 1,1^{1-3}$
АДФ/О	$2,7 \pm 0,1$	$2,2 \pm 0,2^1$	$2,9 \pm 0,1^2$	$2,4 \pm 0,1^{1,3}$
T_p	$33,2 \pm 1,2$	$43,7 \pm 1,5^1$	$30,4 \pm 2,1^2$	$38,9 \pm 2,4^{1,3}$
Перекисное окисление липидов				
МДА, нмоль/мг белка · мин:				
спонтанный	$0,19 \pm 0,02$	$0,39 \pm 0,01^1$	$0,25 \pm 0,02^{1,2}$	$0,30 \pm 0,04^{1,2}$
аскорбат-зависимый	$0,45 \pm 0,03$	$0,96 \pm 0,02^1$	$0,58 \pm 0,02^{1,2}$	$0,66 \pm 0,05^{1-3}$
Диеновые конъюгаты, ед. опт. пл./мг липидов				
Основа Шиффа, ед. опт. пл./мг липидов	$0,26 \pm 0,03$	$0,63 \pm 0,04^1$	$0,42 \pm 0,04^{1,2}$	$0,51 \pm 0,02^{1-3}$
Основа Шиффа, ед. опт. пл./мг липидов	$1,04 \pm 0,06$	$2,60 \pm 0,10^1$	$1,72 \pm 0,06^{1,2}$	$1,94 \pm 0,09^{1-3}$

Примечание. $p < 0,05$ по сравнению с показателями ¹ — у интактных животных; ² — при постгипоксической энцефалопатии; ³ — при введении экстракта лабазника. Приведены средние данные 10 измерений; размерности единиц в табл. 1 и 2: скорости дыхания (V_{4n} , V_3 , V_{4o}) — нанограмм-атом О₂/мин/мг белка митохондрий, время фосфорилирования добавленного АДФ (T_p) — с/мг белка митохондрий.

Повреждение головного мозга при гипоксии обусловлено истощением энергетических ресурсов, нарушением ионного гомеостаза, эксайтотоксическим действием возбуждающих нейромедиаторов и гиперпродукцией активных форм кислорода [7, 10]. В экспериментах энцефалопатия, вызванная гипоксической травмой, сопровождалась существенными изменениями энергопродукции в головном мозге (табл. 1).

При окислении эндогенных субстратов скорости окислительного фосфорилирования V_{4n} и V_{4o} возрастали вдвое, скорость V_3 повышалась на 14% по сравнению со скоростями у интактных животных. Коэффициент АДФ/О снижался на 18%. При субстратной нагрузке сукцинатом активное фосфорилирование V_3 ускорялось на 22%, сопряженность окисления с синтезом аденозинтрифосфата (АТФ) возрастала в 1,5 раза, время фосфорилирования уменьшалось на 40%. НАД-зависимое дыхание характеризовалось ростом скоростей V_{4n} и V_{4o} в 1,2 и 1,6 раза соответственно и тенденцией к увеличению V_3 . Коэффициент АДФ/О снижался на 17%. Малонат замедлял активное фосфорилирование на 26% по сравнению с интенсивностью этого процесса в тесте без ингибирования СДГ. В присутствии малоната время фосфорилирования добавленного АДФ увеличивалось на 32% по сравнению со временем фосфорилирования в контроле.

При модели постгипоксической энцефалопатии значительно усиливалось перекисное окисление липидов головного мозга (табл. 1). Спонтанное и аскорбат-зависимое образование МДА ускорялось в 2,1 раза. Количество диеновых конъюгатов и оснований Шиффа повышалось в 2,4—2,5 раза.

Таким образом, нарушения биоэнергетики при постгипоксической энцефалопатии характеризуются монополизацией дыхательной цепи митохондрий головного мозга сукцинатом — субстратом кинетически более выгодного для энергопродукции пути окисления. Это доказывается ускорением окислительного фосфорилирования при утилизации сукцината и одновременным увеличением его вклада в дыхание при НАД-оксидазном окислении. Состояние митохондриальной энергопродукции после гипоксической травмы можно охарактеризовать как переход в резистентную фазу функционирования [3].

Экспериментальная терапия постгипоксической энцефалопатии экстрактами лабазника обыкновенного и валерианы улучшала дыхательную функцию митохондрий головного мозга (табл. 1). Скорость дыхания V_3 при окислении эндогенных субстратов повышалась на 20% при введении экстракта лабазника и на 17% при введении экстракта валерианы по сравнению со скоростью, измеренной у крыс, перенесших гипоксию головного мозга и оставленных без лечения. В этом эксперименте прослеживалась тенденция к росту коэффициента АДФ/О в обеих группах животных, получавших фитопрепараты. Время окислительного фосфорилирования значимо уменьшалось на 16,5% только при лечении экстрактом лабазника.

В митохондриях головного мозга крыс, получавших экстракт лабазника, ФАД-зависимое дыхание сопровождалось ускорением активного фосфорилирования (V_3) на 15% по сравнению со скоростью при постгипоксической энцефалопатии. Введение экстракта валерианы не увеличивало данного показателя. Коэффициенты АДФ/О оставались такими же, как у животных с гипоксией, не защищенных фитопрепаратами. Окисление малата и глутамата не сопровождалось значимым изменением скорости фосфорилирования. Коэффициент АДФ/О возрастал на 13%, время фосфорилирования уменьшалось на 18% только при введении экстракта лабазника. Фосфорилирование в тесте с утилизацией НАД-зависимых субстратов на фоне ингибирования СДГ малонатом замедлялось на 17% при введении экстракта лабазника и на 11% под влиянием экстракта валерианы по отношению к данным показателям, определенным в суспензии митохондрий без добавления ингибитора. Лечение экстрактом лабазника сопровождалось ростом коэффициента АДФ/О и замедлением фосфорилирования АДФ в НАД-оксидазном пути окисления по сравнению с данными показателями при модели энцефалопатии. Терапия экстрактом валерианы лишь незначительно повышала коэффициент АДФ/О и уменьшала время фосфорилирования добавленной АДФ.

Экспериментальная фитотерапия ослабляла липопероксидацию, активированную в головном мозге при постгипоксической энцефалопатии (табл. 1). Экстракт лабазника снижал интенсивность спонтанной и аскорбатзависимой продукции МДА на 36 и 40%, содержание диеновых конъюгатов и оснований Шиффа — на 33 и 34% соответственно. Антиоксидантный эффект экстракта валерианы был выражен слабее.

Такие результаты свидетельствуют о том, что введение экстракта лабазника обыкновенного и в меньшей степени экстракта валерианы вызывает регресс нарушений биоэнергетики головного мозга при модели постгипоксической энцефалопатии. Эти анксиолитики растительного происхождения активируют кинетику энергопродукции в головном мозге, повышают сопряженность окислительного фосфорилирования и скорости активного ФАД- и НАД-зависимого дыхания. При экспериментальной фитотерапии снижается вклад быстрого окисления сукцината в НАД-зависимое дыхание, что препятствует переходу системы энергопродукции в состояние истощения. Митохондрии головного мозга крыс, подвергнутых гипоксии, продолжают функционировать в фазе резистентности. Это позволяет удовлетворять энергетические запросы нейронов.

При ингибировании β -окисления жирных кислот в кровь поступают нейротоксические продукты — длинноцепочечные и дикарбоновые жирные кислоты, аммиак, фенолы, билирубин, вызывающие тяжелую энцефалопатию [12]. После завершения инъекций 4-пентеновой кислоты (острый период экспериментальной энцефалопатии) в митохондриях головного мозга крыс при окислении эндогенных субстратов, экзогенного сукцината и НАД-зависимых субстратов малата и глутамата в 1,3—1,7 раза снижались скорости дыхания во всех метаболических состояниях, увеличивалось время и уменьшалась сопряженность фосфорилирования добавленной АДФ. Ингибирование окисления сукцината было более выражено, чем торможение окисления смеси малата и глутамата (снижение V_3 на 35,4 и 16,0% соответственно), что обусловлено существенным вкладом СДГ по сравнению с ролью НАД-зависимых дегидрогеназ в энергообеспечение головного мозга и высокой чувствительностью СДГ к уровню энергизации митохондрий. Действительно, при утилизации эндогенных и НАД-зависимых субстратов утрачивался энергетический контроль дыхания с ростом скорости дыхания митохондрий после цикла фосфорилирования добавленной АДФ ($V_{40} > V_{4н}$) и значительным разобщением окислительного фосфорилирования (снижение коэффициента АДФ/О). Сукцинат в качестве субстрата частично восстанавливал энергетический контроль дыхания ($V_{40} = V_{4н}$) и нормализовал сопряженность окислительного фосфорилирования (табл. 2).

Таблица 2

Влияние экстракта крапивы двудомной и силибинина на митохондриальное дыхание и перекисное окисление липидов в гомогенате головного мозга на фоне экспериментального нарушения β -окисления жирных кислот, вызванного 4-пентеновой кислотой ($M \pm m$)

Показатель	Интактные животные	4-пентеновая кислота в течение 7 сут	4-пентеновая кислота спустя 14 сут	Экстракт крапивы + 4-пентеновая кислота	Силибинин + 4-пентеновая кислота
Окисление эндогенных субстратов					
V_{4n}	$9,5 \pm 0,4$	$5,7 \pm 0,5^1$	$3,1 \pm 0,3^{1,2}$	$6,8 \pm 0,5^{1-3}$	$7,3 \pm 0,3^{1-3}$
V_3	$13,2 \pm 0,6$	$10,4 \pm 0,6^1$	$7,9 \pm 0,6^{1,2}$	$11,6 \pm 0,5^{1,3}$	$12,6 \pm 0,4^{2,3}$
V_{4o}	$9,6 \pm 0,3$	$7,9 \pm 0,7^1$	$3,5 \pm 0,8^{1,2}$	$8,4 \pm 0,6^3$	$8,7 \pm 0,4^3$
АДФ/О	$1,7 \pm 0,2$	$0,90 \pm 0,04^1$	$0,9 \pm 0,1^1$	$1,5 \pm 0,1^{2,3}$	$1,6 \pm 0,2^{2,3}$
T_p	$36,2 \pm 1,1$	$69,3 \pm 2,3^1$	$83,8 \pm 3,1^{1,2}$	$39,3 \pm 2,0^{2,3}$	$33,5 \pm 1,7^{2-4}$
Окисление сукцината					
V_{4n}	$9,5 \pm 0,4$	$7,2 \pm 0,4^1$	$4,1 \pm 0,3^{1,2}$	$6,9 \pm 0,3^{1,3}$	$8,3 \pm 0,5^{3,4}$
V_3	$22,9 \pm 0,9$	$14,3 \pm 0,6^1$	$8,0 \pm 0,4^{1,2}$	$16,9 \pm 0,5^{1-3}$	$18,4 \pm 0,5^{1-3}$
V_{4o}	$9,1 \pm 0,3$	$6,4 \pm 0,5^1$	$3,8 \pm 0,4^{1,2}$	$7,7 \pm 0,3^{1,3}$	$9,2 \pm 0,4^{2-4}$
АДФ/О	$2,1 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,2$	$1,35 \pm 0,03^1$	$2,1 \pm 0,1^{2,3}$	$2,1 \pm 0,1^{2,3}$
T_p	$24,8 \pm 1,2$	$48,9 \pm 1,9^1$	$48,6 \pm 2,2^1$	$25,4 \pm 1,5^{2,3}$	$27,9 \pm 2,1^{2,3}$
Окисление малата и глутамата					
V_{4n}	$8,4 \pm 0,4$	$6,7 \pm 0,4^1$	$4,1 \pm 0,2^{1,2}$	$8,4 \pm 0,3^{2,3}$	$8,6 \pm 0,3^{2,3}$
V_3	$21,3 \pm 1,2$	$17,9 \pm 0,9^1$	$7,6 \pm 0,5^{1,2}$	$15,6 \pm 0,6^{1,3}$	$20,9 \pm 0,8^{2-4}$
V_{4o}	$7,5 \pm 0,3$	$5,0 \pm 0,5^1$	$4,1 \pm 0,3^{1,2}$	$7,1 \pm 0,3^{2,3}$	$7,5 \pm 0,3^{2,3}$
АДФ/О	$2,70 \pm 0,07$	$1,23 \pm 0,04^1$	$0,9 \pm 0,1^{1,2}$	$1,69 \pm 0,02^{1-3}$	$1,8 \pm 0,1^{1-3}$
T_p	$23,9 \pm 1,8$	$39,3 \pm 2,3^1$	$44,5 \pm 2,5^1$	$34,1 \pm 1,7^{1-3}$	$28,2 \pm 1,7^{2-4}$
Окисление малата и глутамата в присутствии малоната					
V_{4n}	$7,3 \pm 0,5$	$5,7 \pm 0,4^1$	$4,0 \pm 0,2^{1,2}$	$7,1 \pm 0,4^{2,3}$	$8,1 \pm 0,3^{2,3}$
V_3	$17,7 \pm 0,7$	$13,4 \pm 1,0^1$	$7,0 \pm 0,6^{1,2}$	$16,4 \pm 0,4^{2,3}$	$17,5 \pm 0,6^{2,3}$
V_{4o}	$7,4 \pm 0,4$	$5,3 \pm 0,3^1$	$3,5 \pm 0,1^{1,2}$	$6,9 \pm 0,5^{2,3}$	$7,2 \pm 0,5^{2,3}$
АДФ/О	$2,0 \pm 0,1$	$1,42 \pm 0,04^1$	$1,27 \pm 0,05^{1,2}$	$1,8 \pm 0,1^{2,3}$	$1,9 \pm 0,1^{2,3}$
T_p	$21,7 \pm 1,8$	$24,2 \pm 1,5$	$42,0 \pm 2,4^{1,2}$	$25,1 \pm 2,0^3$	$24,6 \pm 1,6^3$
Перекисное окисление липидов					
МДА, нмоль/мг белка · мин:					
спонтанный	$0,25 \pm 0,03$	$0,58 \pm 0,01^1$	$0,98 \pm 0,05^{1,2}$	$0,48 \pm 0,01^{1-3}$	$0,44 \pm 0,02^{1-3}$
аскорбатзависимый	$0,13 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,02^1$	$0,36 \pm 0,04^{1,2}$	$0,21 \pm 0,05^{1-3}$	$0,18 \pm 0,02^{1-3}$
Диеновые конъюгаты, ед. опт. пл./мг липидов	$0,24 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,07^1$	$1,15 \pm 0,09^{1,2}$	$0,55 \pm 0,07^{1-3}$	$0,50 \pm 0,06^{1-3}$
Основания Шиффа, ед. опт. пл./мг липидов	$1,85 \pm 0,10$	$2,38 \pm 0,12^1$	$2,85 \pm 0,10^{1,2}$	$2,19 \pm 0,09^{1-3}$	$2,05 \pm 0,07^{1-3}$

Примечание. $p < 0,05$: по сравнению с показателями ¹ — у интактных животных, ² — при введении 4-пентеновой кислоты в течение 7 сут, ³ — при введении 4-пентеновой кислоты спустя 14 сут после окончания инъекций, ⁴ — по отношению к экстракту крапивы. Приведены средние данные 10 определений.

Добавление в среду инкубации митохондрий головного мозга ингибитора СДГ малоната продемонстрировало при патологии β -окисления жирных кислот сохранение резерва сукцинатоксидазной активности, торможение сукцинатзависимой энергопродукции и неспособность системы переноса электронов дыхательной цепи выдерживать интенсивную нагрузку: на фоне значительного угнетения дыхания и фосфорилирования сопряженность окислительного фосфорилирования снижалась в присутствии малоната в 1,4 раза,

тогда как при утилизации НАД-зависимых субстратов и образующегося в цикле Кребса эндогенного сукцината (окисление без малоната в среде инкубации) она становилась в 2,2 раза меньше, чем в норме. При дефекте β -окисления жирных кислот образование в головном мозге спонтанного и аскорбатзависимого МДА ускорялось в 2,2—2,3 раза, содержание диеновых конъюгатов и оснований Шиффа возрастало в 2,1 и 1,3 раза соответственно по сравнению с показателями липопероксидации у интактных животных (табл. 2).

При экспериментальной энцефалопатии, вызванной ингибированием β -окисления жирных кислот, в митохондриях головного мозга нарушается функционирование наиболее активного пути утилизации субстратов, связанного с образованием и окислением эндогенного сукцината [3], разобщается окислительное фосфорилирование, развивается деэнергизация, истощаются субстратные запасы, активируется перекисное окисление липидов. Судя по реакции на субстрат, функциональные изменения в митохондриях головного мозга носят обратимый характер и могут быть компенсированы после восстановления их энергетического потенциала.

К 14-м сут после окончания инъекций 4-пентеновой кислоты (отдаленный период ингибирования β -окисления жирных кислот) субъективное состояние животных ухудшалось, а метаболические расстройства в головном мозге прогрессировали. Дыхательная активность митохондрий при окислении флавино- и НАД-зависимых субстратов дополнительно снижалась в 1,3—2,4 раза, усиливалось разобщение окислительного фосфорилирования с уменьшением коэффициента АДФ/О и замедлением фосфорилирования добавленной АДФ. Продукция МДА ускорялась в 1,3—1,7 раза, количество диеновых конъюгатов и оснований Шиффа становилось выше в 2,3 и 1,2 раза соответственно, чем после окончания инъекций 4-пентеновой кислоты (табл. 2). Такие изменения характерны для первично поврежденных митохондрий и митохондрий новой генерации (как известно, обновление митохондрий происходит в течение недели). Митохондрии функционируют в условиях интенсивной продукции свободных радикалов и накопления свободных жирных кислот, разобщающих окислительное фосфорилирование [11]

Терапия экспериментальной энцефалопатии экстрактом крапивы и силибинином, проведенная в течение 14 дней, улучшала метаболические процессы в головном мозге. В митохондриях по сравнению с показателями в отдаленный период ингибирования β -окисления жирных кислот дыхательная активность повышалась в 1,5—2,7 раза во всех метаболических состояниях, фосфорилирование АДФ ускорялось в 1,4—2,5 раза, сопряженность окислительного фосфорилирования возрастала при окислении эндогенных, НАД-зависимых субстратов и сукцината. Коэффициент АДФ/О нормализовался в эксперименте с окислением эндогенных субстратов и добавленного сукцината, что

свидетельствует о сохранности под действием экстракта крапивы и силибинина внутренней мембраны митохондрий. Фитопрепараты (в наибольшей степени экстракт крапивы) не только сдерживали дальнейшее ухудшение биоэнергетики головного мозга в отдаленный период патологии β -окисления жирных кислот, но и вызывали регресс этих нарушений (табл. 2).

В головном мозге животных, получавших экстракт крапивы или силибинин, при окислении НАД-зависимых субстратов малата и глутамата в присутствии ингибитора малоната скорости дыхания, интенсивность фосфорилирования добавленной АДФ и сопряженность окислительного фосфорилирования не отличались от нормы, что указывает на отсутствие повреждения легко окисляемых тиоловых ферментов (дегидрогеназ, аминотрансфераз, аденозинтрифосфатаз). Образование аскорбатзависимого и спонтанного МДА, диеновых конъюгатов уменьшалось в 1,7—2,3 раза, оснований Шиффа — в 1,3—1,4 раза (табл. 2).

Таким образом, экстракт крапивы двудомной и силибинин ослабляют нарушения биоэнергетики головного мозга, вызванные экспериментальным дефектом β -окисления жирных кислот. Эти фитопрепараты восстанавливают энергетический потенциал митохондрий, скорости утилизации субстратов цикла Кребса, сопряженность окислительного фосфорилирования, нормализуют активность быстрого пути окисления сукцината. Оба фитопрепарата являются активными антиоксидантами — сквенджерами свободных радикалов. Они также потенцируют эффекты эндогенных антиоксидантных систем (глутатион, витамин Е) [9].

Результаты проведенных экспериментальных исследований доказывают, что экстракты лабазника обыкновенного и крапивы двудомной нормализуют биоэнергетику головного мозга при моделях энцефалопатии. Терапевтическое влияние этих фитопрепаратов на функции митохондрий и синтез макроэргических фосфатов вносит вклад в их церебропротективное действие.

Выводы

1. Экстракт лабазника обыкновенного эффективнее экстракта валерианы оказывает антиоксидантный эффект и восстанавливает регуляцию энергетического обмена в головном мозге при модели постгипоксической энцефалопатии.

2. Экстракт крапивы двудомной в большей степени, чем силибинин, тормозит липопероксидацию и улучшает функции митохондрий головного мозга при экспериментальном ингибировании β -окисления жирных кислот, вызванном 4-пентеновой кислотой.

Литература

1. Венгеровский А.И. Первая кафедра фармакологии Сибири // Эксперим. и клинич. фармакология. 2008. Т. 71, № 2. С. 60—64.
2. Венгеровский А.И., Хазанов В.А., Шутков Д.В. Влияние гепатопротекторов, содержащих полифенолы, на биоэнергетику при экспериментальной токсической патологии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2008. Прил. 2. С. 59—62.
3. Кондрашова М.Н. Взаимодействие метаболической и гормональной регуляции (биоэнергетические аспекты) // Регуляторы энергетического обмена. Материалы симпозиума. М.; Томск: Изд-во Том. ун-та. 2001. С. 16—26.
4. Митохондрии в патологии / под ред. М.Н. Кондрашовой, Ю.Г. Каминского, Е.Г. Маевского. Пущино: Наука, 2001. 325 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств / под ред. Р.У. Хабриева М.: Медицина, 2005. 832 с.
6. Хафизьянова Р.Х., Бурькин И.М., Алеева Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной фармакологии. Казань: Медицина, 2006. 374 с.
7. Busl K., Greer D. Hypoxic-ischemic brain injury: pathophysiology, neuropathology and mechanisms // NeuroRehab. 2010. V. 26, № 1. P. 5—13.
8. Catala A. An overview of lipid peroxidation // Intern. J. Biochem. Cell Biol. 2006. V. 38, № 9. P. 1482—1495.
9. Chrubasic J.E., Roufogalis B.D., Wagner H., Chrubasic S.A comprehensive review in the nettle effect and efficacy profiles. Part I. Herba urtica // Phytomedicine. 2007. V. 14, № 6. P. 423—435.
10. Greer D. M. Mechanisms of injury in hypoxic-ischemic encephalopathy: implications to therapy // Semin. Neurol. 2006. V. 26, № 4. P. 373—379.
11. Rao K., Norenberg M. Cerebral energy metabolism in hepatic encephalopathy and hyperammonemia // Metab. Brain Dis. 2001. V. 16, № 1. P. 67—78.
12. Rinaldo P., Matern D. Disorders of fatty acid transport and mitochondrial oxidation: challenges and dilemmas of metabolic evaluation // Genet. Med. 2000. V.2, № 4. P. 338—344.
13. Sakaida N., Senzaki H., Shikata N., Morii S. Microvesicular fatty liver in rats with resembling Reye's syndrome induced by 4-pentenoic acid // Acta Pathol. Jpn. 1990. V. 40, № 9. P. 635—642.

Поступила в редакцию 02.04.2011 г.

Утверждена к печати 01.06.2011 г.

Сведения об авторах

В.Н. Буркова — д-р хим. наук, профессор кафедры фармацевтической технологии СибГМУ (г. Томск).

А.И. Венгеровский — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии СибГМУ (г. Томск).

Н.И. Сулов — д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

А.В. Кайгородцев — аспирант кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

О.Н. Насанова — аспирант кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

А.И. Яценков — аспирант кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

Е.И. Гришина — канд. биол. наук, доцент кафедры фармации Омской государственной медицинской академии (г. Омск).

Е.В. Мелик-Гайказян — канд. мед. наук, ст. преподаватель кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

Л.А. Фисанова — канд. биол. наук, ст. преподаватель кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

Венгеровский Александр Исаакович, e-mail: pharm-sibgmu@rambler.ru