

## РЕГУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ АДАПТОГЕНОВ ВИТАЖЕН И АНТИОКС НА УРОВНИ МЕТАЛЛОПРОТЕИНОВ И МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ПОВЫШЕННОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ

Н.А. БАГДАСАРЯН

*Государственный медицинский университет им М.Гераци, 375025, Ереван*

Витажен и антиокс, которые получали интактные крысы в течение 10 дней (ежесуточно 60-70 мг/кг), вызывают определенные отклонения от нормы уровней Cu, Zn-супероксиддисмутазы, каталазы и цитохрома С, а также малонового диальдегида в печени животных, создавая соответствующий фон рецидивного оксидативного стресса. Однако при последующей повышенной физической нагрузке животных они несколько приближают уровни этих металлопротеинов и снижают уровень малонового диальдегида, оказывая тем самым антистрессорный эффект.

Վիտաժենը և անտիօքսը, որոնք 10 օր շարունակ տրվում են ինտակտ առնետներին (օրական 60-70 մգ/կգ), հանգեցնում են լյարդում Cu, Zn-սուպերօքսիդիզիսմուտազի, կատալազի և ցիտոքրոմ C-ի, ինչպես նաև մալոնային դիալդեհիդի մակարդակների որոշակի շեղման ստուգիչ ցուցանիշների համեմատ, հարուցելով համապատասխան ֆոնով ռեցիդիվային օքսիդատիվ սթրես: Վիտաժեն կամ անտիօքսը ստացած առնետների մոտ դիտվում է նշված մետաղապրոտեինների մակարդակների որոշակի մոտեցում ստուգիչ ցուցանիշներին և մալոնային դիալդեհիդի քանակի նվազում: Դրանով իսկ վիտաժենը և անտիօքսը ցուցաբերում են հակասթրեսային ազդեցություն միայն բարձր ծանրաբեռնվածության ժամանակ:

Vitajen and antiox during 10 days (daily 60-70 mg/kg) cause the certain shifts of the endogenous levels of Cu, Zn-superoxidodismutase, catalase, cytochrome C and malone dialdehyde (MDA) in intact rat's liver corresponding level of recidive oxidative stress. They in this regime reveal the antistressory effect in the rat's liver at high physical load by the way of the regulation of the endogenous levels of these metalloproteins and decrease the amount of malone dialdehyde.

*Металлопротеин - малоновый диальдегид - печень - адаптоген*

При повышенной физической нагрузке в 10-15 раз возрастает расходование кислорода с увеличением фона активных форм кислорода (АФК), что вызывает "рецидивный" оксидативный стресс, при котором антиоксидантные препараты оказывают положительный эффект [6]. При этом наблюдается увеличение расходования метаболита антиоксидантного действия витамина Е, который оказывает мембрано-стабилизирующий эффект, улучшая общее состояние организма [8]. Увеличение уровня супероксиддисмутазы (СОД) в печеночной ткани наблюдается при физической нагрузке крыс, получивших диетические белки сои и казеина [7]. Положительное воздействие на состояние метаболитов-регуляторов метаболизма активного кислорода в крови спортсменов в постнагрузочный период оказывает адаптоген растительного происхождения витажен [3], в состав которого входят витамин Е, женьшень, а также различные микроэлементы [1].

Целью нашей работы является выявление действия как витажена, так и антиокса на уровень антиоксидантных ферментов – Cu, Zn-СОД и каталазы, а также малонового диальдегида (МДА) в печени интактных крыс и крыс при повышенной физической нагрузке.

**Материал и методика.** Белые половозрелые крысы обоих полов, массой 180-220 г были разделены на контрольную и 5 опытных (I-V) групп по 12 крыс в каждой. Крысы I группы получали витажен в профилактическом режиме в течение 10 дней с ежедневной дозой в среднем 60-70 мг/кг массы животного, II - адаптоген антиокс при тех же условиях, III группу подвергали в течение 20 мин принудительному плаванию спустя 10 дней, крысы IV группы получали витажен в вышеприведенном режиме и затем подвергали повышенной физической нагрузке (плавание); V группа отличалась от IV только тем, что здесь был употреблен антиокс.

Витажен и антиокс вводили крысам вместе с кормом. Все животные были декапитированы под легким эфирным наркозом. Печеночную ткань собирали в каждой группе отдельно и гомогенизировали (навеска по 50г) в 200 мл 0,04 М раствора калий-фосфатного буфера (КФБ), рН 7,4, при 4° со скоростью вращения 3000 об/мин в течение 3 мин. Затем отделяли по 10 мл гомогената для определения в них содержания МДА по методу Владимирова и Арчакова [4]. Обогащенную суммарную фракцию СОД и каталазы получали по методу Симоняна [5]. В частности, гомогенаты отдельных групп повторно гомогенизировали в ацетоне (соотношение гомогенат/ацетон – 1:2) в аналогичном режиме. Ацетоновые осадки центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин, высушивали при 5-10°, затем гомогенизировали в 0,04 М растворе КФБ (по 100 мл) и ставили смесь на диализ против воды, после чего ее центрифугировали, надосадочные растворы подвергали ионно-обменной хроматографии на отдельных колонках с целлюлозой DE-52 (Whatman, Англия). После элюирования других белков 0,004 М КФБ, СОД элюировали 0,02 М КФБ, а каталазу – 0,2 М КФБ, в результате чего было получено по 30 мл фракции Cu, Zn-СОД и каталазы. Неосевшую на DE-52 фракцию цитохрома С осаждали на колонке с целлюлозой KM-52, из которой цитохром С элюировали 0,2 М КФБ. В результате получается 5 мл цитохрома С с характерным оптическим спектром поглощения.

Как количественные показатели полученных металлопротеинов и МДА были использованы характерные для данного белка и МДА плотности максимальных оптических поглощений, которые для Cu<sup>2+</sup>, Zn-СОД имеются при 680 нм, каталазы – 500 нм, цитохрома С – 520 нм и МДА – 535 нм [4].

Эксперимент повторяли 6 раз, а статистическую обработку полученных данных осуществляли общеизвестным методом Стьюдента-Фишера.

**Результаты и обсуждение.** На основании приведенных в таблице данных были рассчитаны относительные изменения (%) плотностей оптических поглощений данных металлопротеинов и МДА по сравнению с нормой (показатели интактных крыс). Уровни Cu<sup>2+</sup>, Zn-СОД, каталазы, цитохрома С и продукта липидной пероксидации – малонового диальдегида в печеночной ткани крыс после 10-дневного воздействия адаптогенов витажена или антиокса, по сравнению с контролем изменяются следующим образом: +36,2±2,8%; -33,7±2,4%; -52,9± 5,1% в случае витажена и +20,7±1,1%; 15,3±0,6%; 35,8±2,6% в случае антиокса соответственно. Повышенная физическая нагрузка (20 мин плавания) приводит к изменению активностей СОД и каталазы, а также содержания МДА в печеночной ткани интактных животных на +20,7±1,1%; -26,1±1,3%; +28, 3±1, 9%.

Употребление витажена или антиокса в течение 10 дней с повышенной физической нагрузкой приводит к изменению уровней СОД, каталазы и МДА на +20,6±1,3%; -36,6± 2,2% и -60,4±5,1% при применении витажена и +20,2±1,5%; +12,8±0,3%; -47,2±3,8% в случае антиокса.

Можно констатировать, что если уровень СОД под влиянием витажена повышается и остается неизменным, то уровень каталазы снижается и увеличивается под воздействием антиокса. Витажен больше снижает липидную перекисидацию по сравнению с нормой антиокс. В профилактических целях предпочтительнее использование антиокса, как фактора “смягчения” нежелательных последствий рецидивного оксидативного стресса в печени животных при повышенной физической нагрузке.

Таблица. Плотность максимальных оптических поглощений металлопротеинов и МДА в печени контрольных и опытных крыс (1-5)

Металлопротеины и МДА	Группы животных					
	Контроль	1	2	3	4	5
Cu,Zn-СОД ( $A_{680}$ ) <sup>*</sup>	0.05±0.004	0.068±0.006	0.06±0.003	0.06±0.004	0.06±0.005	0.06±0.007
Каталаза ( $A_{990}$ )	0.20±0.05	0.12±0.01	0.23±0.02	0.14±0.01	0.12±0.005	0.22±0.01
ЦитохромС ( $A_{520}$ )	0.18±0.01	0.20±0.04	0.21±0.02	0.16±0.005	0.19±0.01	0.191±0.01
МДА ( $A_{532}$ )	0.80±0.1	0.37±0.08	0.51±0.06	1.02±0.11	0.31±0.05	0.42±0.03

*Примечание:* \* в скобках приведены нанометры максимального оптического поглощения, характерного для данного белка.

Употребление интактными крысами витажена или антиокса в течение 10 дней приводит к увеличению активности СОД (по сравнению с контролем) и уменьшению липидной перекисидации (содержания МДА). Эти изменения более выражены при приеме витажена (таблица). Если витажен снижает активность каталазы, то антиокс, наоборот, несколько повышает ее уровень. Повышенная физическая нагрузка (20 мин принудительного плавания, с двумя летальными исходами) также вызывает повышение уровня СОД и МДА и понижение уровня каталазы. Витажен, введенный интактным крысам в профилактических целях, не повышает уровень каталазы (он остается ниже нормы), резко снижая при этом уровень МДА (около 60%) после физической нагрузки. С этой точки зрения, антиокс более предпочтителен, так как сохраняет повышенный уровень СОД и каталазы, хотя уровень МДА заметно снижается по сравнению с нормой. Создается впечатление, что витажен или антиокс практически не вызывают изменение уровня СОД в печени животных, они почти одинаковы до и после физической нагрузки. Механизм снижения уровня МДА под воздействием витажена или антиокса, скорее всего, связан с их антиоксидантным воздействием, особенно витажена, в состав которого также входят витамин Е и микроэлементы. Можно констатировать, что эти адаптогены имеют свободный “доступ” в клеточные структуры печени, вызывая различные действия на уровне некоторых регуляторных систем метаболизма активного кислорода в печеночной ткани животных. Заметное понижение уровня каталазы под воздействием витажена и повышение под воздействием антиокса связано с различными адаптационными механизмами этих препаратов. Экзогенно введенный витажен резко снижает уровень АФК, при этом понижая потребность каталазы и снижая ее синтез. Однако этот механизм не действует в случае антиокса, при котором уровень каталазы несколько повышается по сравнению с нормой. Безусловно, подобное явление

невозможно связывать с различной степенью ингибирования липидной перекисидации витаженом или антиоксом (у витажена она выше на 16%). Известно, что введенный в лечебных целях витажен в постнагрузочный период ощутимо регулирует нарушенное равновесие металлопротеинов регуляторов метаболизма АФК в крови спортсменов (футболистов, волейболистов и борцов) [2].

Таким образом, можно заключить, что витажен и антиокс вызывают рецидивный (временный) оксидативный стресс в печеночной ткани у интактных животных, при повышенной физической нагрузке они оказывают антистрессорный эффект в печени крыс.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Багдасарян Г.Г., Симонян М.А., Овелян Г.А., Боролян Р.Г. Сб. мат-ов научн.-практич.конф. ЦКВГ МО РА, 116-124,1998.
2. Багдасарян Г.Г., Боролян Р.Г., Овелян Г.А., Симонян М.А. Итоги и перспективы развития современной медицины в контексте XXI века. Мин. здрав. Кыргызской республики и Гос. Мед. Академии. Бишкек, 764-767. 1998.
3. Багдасарян Г.Г., Овелян Г.А., Симонян М.А., Боролян Р.Г. Мед. наука Армении, 39, 2, 84-89,1999.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биомембранах. Наука, М., 1972.
5. Симонян М.А. Способ получения супероксиддисмутазы из животного сырья. Открытия Изобретения (СССР), 28, с.107, АС 1413139.1988,
6. Clarkson P.M. Antioxidants and physical performance Crit. Rev. Food. Sci. Nutr., 30, 1-2, 131-141, 1995.
7. Song Y., Igawa S, Eorii A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 64, 849-856,1972.
8. Tiidus P.M., Mouston M.E. Vitamin E status and response to exercise training. Sports Med., 20, 1, 12-13,1995.

Поступила 10.V.2003