

УДК 577.121.636.03

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.1.226

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЙ СТАТУС У КРЫС WISTAR ПРИ ВВЕДЕНИИ КЛАТРАТНОГО КОМПЛЕКСА 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА С АРАБИНОГАЛАКТАНОМ

Федорова А.В.¹ – аспирант, Еримбетов К.Т.^{1,2} – д.б.н., научный руководитель (ORCID 0000-0003-4314-658X), Земляной Р.А.¹ – аспирант, Обвинцева О.В.¹ – к.б.н. м.н.с. (ORCID 0000-0002-4829-084X),

¹ ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных - филиал ФГБНУ ФНЦ животноводства - ВИЖ им. Л.К. Эрнста

² ООО Научно-исследовательский центр «Парк активных молекул»

Ключевые слова: 20-гидроксиэкдистерон, арабиногалактан супрамолекулярные соединения, крысы, физиолого-биохимический статус, обмен веществ **Keywords:** 20-hydroxyecdysterone, arabinogalactan supramolecular compounds, rats, physiological-biochemical status, metabolism



РЕФЕРАТ

Экдистероиды – это группа полигидроксилированных стероидных соединений, являющихся одним из самым распространенных и многочисленных семейств стероидных соединений в биосфере и обладающих разнообразной биологической активностью: адаптогенной, анаболической, антитоксической, стресс- и органопротекторной, антидиабетической и др.

Для проведения физиологических исследований был создан решётчатый активный клатратный комплекс (КК) 20-гидроксиэкдистерона (20-ГЭ) на основе синтеза супрамолекулярного соединения с арабиногалактаном (АГ) методом клатрирования. Целью исследований явилось оценка физиологического статуса организма крыс Wistar при введении КК 20-ГЭ с АГ. Эксперименты проведены на 110 крысах самцах и самках. Крысы были разделены на 4 группы. Крысам I группы вводили водный раствор АГ; II группы - КК 20-ГЭ с АГ в дозе 1,0 мг/кг; III группы - КК 20-ГЭ с АГ в дозе 5,0 мг/кг. На крысах показано, что введение КК 20-ГЭ с АГ в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг способствует интенсификации обмена веществ, в частности улучшается липидный обмен, усиливаются биосинтетические и биоэнергетические процессы в их организме. Об усилении анаболических процессов в организме крыс опытных групп свидетельствуют данные по повышенному уровню общего белка и альбумина, более высокой активности креатинкиназы и щелочной фосфатазы на фоне низкой концентрации мочевины, триглицеридов и холестерина. У крыс, получавших КК 20-ГЭ с АГ отмечено усиление биоэнергетических процессов в сторону наиболее эффективной аэробной фазы энергопродукции с целью обеспечения эквивалентами возрастающей энергозатратной белоксинтезирующей системы. Следует отметить, что наилучшие результаты были получены при дозе 1,0 мг/кг массы тела крыс.

ВВЕДЕНИЕ

Экдистероиды – это группа полигидроксилированных стероидных соединений, являющихся одним из самым распространенных и многочисленных се-

мейств стероидных соединений в биосфере и обладающих разнообразной биологической активностью: адаптогенной, анаболической, антитоксической, стресс- и органопротекторной, антидиабетической

и др. [1, 2, 3, 9, 10, 11, 12]. Медико-биологическое значение экдистероидов является очень существенным. Исходя из активности и доступности, практическое значение имеют фитоэкдистероиды. Самым распространенным фитоэкдистероидом является 20-гидроксиэкдистерон (20-ГЭ), в основном экстрагируемым из корней и корневищ левзеи сафлоровидной, а также и многих других растений [8,10].

Кроме того, одним из направлений повышения эффективности лекарственных препаратов является их модификация с природными полимерами, в частности арабиногалактаном (АГ) - водорастворимым полисахаридом, выделяемым из древесины лиственницы. Существуют данные, что использование арабиногалактана в качестве матрицы позволяет обеспечить высокую биодоступность и пролонгирование действия активного компонента, а также снизить его токсичность при одновременном усилении фармакологического действия фармакона, что позволяет уменьшить терапевтическую дозу и снизить риск развития нежелательных явлений [6].

Повысить фармакологическую эффективность и биодоступность лекарственного средства также можно путем изменения размера частиц (наноразмерная форма), что способствует преодолению гистогематического барьера. В этом случае может измениться и токсичность активного компонента.

Крайне актуальным является из-за ограниченности ресурсов растительного лекарственного сырья проблема увеличения биодоступности 20-ГЭ путем создания супрамолекулярного соединения (клатратного комплекса КК) с АГ [5].

КК 20-ГЭ с АГ за счет улучшения биофармацевтических свойств (биодоступности и растворимости), может обеспечить его применение в качестве медицинского или ветеринарного препарата.

Оценка нового КК 20-ГЭ с точки зрения его влияния на функциональное состояние систем и органов животных является крайне актуальной задачей.

Целью работы явилось оценка физиологического статуса организма крыс Wistar при введении КК 20-ГЭ с АГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения физиологических исследований был создан КК 20-ГЭ с АГ, так называемое супрамолекулярное соединение с АГ.

В эксперименте на крысах Wistar изучалось влияние КК 20-ГЭ с АГ на метаболизм белков, углеводов, липидов.

Эксперимент на крысах был проведен на 110 самцах и самках с начальной массой тела 140-160 г. Крысы были разделены на 4 группы. Крысам I группы (контроль) вводили водный раствор АГ; II группы - КК 20-ГЭ с АГ в дозе 1,0 мг/кг; III группы - КК 20-ГЭ с АГ в дозе 5,0 мг/кг. В каждой группе было по 15 животных. В группе интактных животных - по 10 особей. Крысы содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к питьевой воде и корму. Кровь у крыс всех групп брали после усыпления из задней полой вены. Образцы сыворотки крови замораживались и хранились до анализа на биохимические показатели при - 70°C.

В сыворотке крови проанализировали: общий белок и альбумин; активность ферментов аспаратаминотрансферазы (АСТ) (КФ 2.6.1.1.), аланинаминотрансферазы (АЛТ) (К.Ф. 2.6.1.2.), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) (К.Ф. 2.3.2.2.), щелочной фосфатазы (ЩФ) (КФ 3.1.3.1), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (КФ 1.1.1.27), креатинфосфокиназы (КФК) (КФ 2.7.3.2); содержание триглицеридов, холестерина общего, креатинина с помощью наборов. Концентрацию мочевины в сыворотке крови определяли диацетилмоноксимным методом. Концентрацию общих фосфолипидов в плазме крови определяли с применением ферментативного колориметрического теста.

Математическую обработку полученных данных осуществляли с применением t-критерия [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

КК 20-ГЭ с АГ был получен твердофазным методом клатрирования при массовом соотношении: 1:10 20-ГЭ:АГ. Полученный КК 20-ГЭ с АГ представляет собой мелкодисперсный порошок.

Таблица 1

Биохимические показатели крови крыс (M±m, n = 13)

Показатели	Группы			
	Интактные живот- ные	1-я	2-я	3-я
Самки				
Креатинин, мкмоль/л	35,1±0,76	34,3±0,85	37,2±0,99*	37,8±1,03***
Мочевина, ммоль/л	5,24±0,35	5,53±0,36	3,80±0,14***	3,91±0,16*
АСТ, Ед/л	176,2±6,21	171,2±5,13	180,8 ± 4,89	178,9 ± 4,44
АЛТ, Ед/л	52,6 ± 2,97	54,3±2,54	47,3± 2,10*	46,0 ± 2,28*
ГГТ, Ед/л	9,4± 0,72	9,8 ± 0,59	7,9 ± 0,68*	7,7± 0,75*
АСТ+АЛТ/ГГТ	24,3	23,0	28,9	29,2
Общий белок, г/л	68,1±0,91	67,4±0,88	71,8±0,79*	72,3±0,85*
Альбумин (А), г/л	36,0±0,70	35,5±0,55	38,8±0,43*	38,9±0,50*
Глобулины (Г), г/л	32,1±0,32	31,9±0,29	33,0±0,34	33,4±0,41
Отношение А/Г	1,10	1,11	1,15	1,17
КФК, Ед/л	262,2±25,0	278,6±23,4	346,5±19,8*	350,9±21,7*
ЩФ, Ед/л	78,3±4,54	82,1±3,34	94,1±3,13*	91,5±2,92*
Триглицериды, ммоль/л	1,64±0,04	1,62±0,03	1,32±0,04*	1,39±0,04*
Холестерин, ммоль/л	1,48±0,03	1,45±0,03	1,27±0,04*	1,25±0,05*
ЛДГ, Ед/л	659,5±37,6	650,8±31,5	853,7±37,9*	884,1±39,7*
Самцы				
Креатинин, мкмоль/л	37,7±0,76	38,5±0,66	42,4±0,79*	41,7±0,82*
Мочевина, ммоль/л	4,84±0,33	5,98±0,24	3,59±0,21***	4,17±0,34**
КФК, Ед/л	278,5±23,2	281,5±25,4	364,9±17,7*	349,1±21,7
ЩФ, Ед/л	82,5±3,42	85,0±3,21	96,7±3,01*	93,0±3,14
ЛДГ, Ед/л	666,1±30,2	677,6±32,6	895,5±40,2*	890,7±41,0*
Триглицериды, ммоль/л	1,58±0,03	1,60±0,04	1,29±0,03*	1,35±0,03*
Холестерин, ммоль/л	1,42±0,04	1,49±0,03	1,31±0,04*	1,29±0,04*
АСТ, Ед/л	177,8±5,43	178,3±4,22	183,9 ± 4,98	182,8 ± 3,78
АЛТ, Ед/л	53,8 ± 2,66	56,2±2,11	45,1± 2,34*	44,5 ± 2,21*
ГГТ, Ед/л	9,1± 0,53	9,6 ± 0,49	7,7 ± 0,72*	7,8± 0,70*
АСТ+АЛТ/ГГТ	25,4	24,4	29,7	29,1
Общий белок, г/л	68,6±0,89	68,2±0,82	72,3±0,59*	72,6±0,74*
Альбумин (А), г/л	35,9±0,66	35,8±0,50	39,1±0,39*	39,0±0,48*
Глобулины (Г), г/л	32,7±0,30	32,4±0,31	33,2±0,29	33,6±0,40

*P<0,001; **P<0,005;***P<0,0001 по t-тесту при сравнении с контролем

Проведенные исследования показали, что введение крысам КК 20-ГЭ с АГ в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг массы тела способствует интенсификации биосинтетиче-

ских процессов по сравнению с контролем (табл.1). У крыс опытных групп по сравнению с контролем в сыворотке крови статистически значима ниже концен-

трация мочевины при высоком содержании креатинина, общего белка, альбумина. Повышение биосинтетических процессов в организме крыс опытных групп, приводило более интенсивному включению аминокислот в белки, и меньшая их часть из общего пула превращалась в мочевины в цикле мочевинообразования. При этом по активности ферментов АСТ, АЛТ и ГГТ можно сделать вывод, что введение КК 20-ГЭ с АГ крысам обеспечивает оптимальные условия для эффективного биосинтеза белка в организме. Другими исследователями продемонстрировано, что белоксинтезирующее действие 20-ГЭ в организме животных главным образом связан с ускорением трансляционных процессов на этапе инициации трансляции и элонгации, но не определяется его влиянием на синтез мРНК [7].

Стимуляция КК 20-ГЭ с АГ белково-анаболических процессов в организме крыс приводит к изменению течения ферментативных реакций в пользу полного окисления субстратов и обеспечения энергетическими эквивалентами в виде аденозинтрифосфата. Об этом свидетельствуют высокие уровни креатинина ($P \leq 0,05$) и активности ферментов КК ($P \leq 0,05$) и ЩФ ($P \leq 0,05$) в сыворотке крови крыс опытных групп (табл. 1). Усиление активности ЛДГ в сыворотке крови крыс опытных групп при применении КК 20-ГЭ с АГ может свидетельствовать в значительной мере в пользу полного окисления глюкозы, что приводит большому образованию аденозинтрифосфата.

КК 20-ГЭ с АГ при его введении крысам способствует существенному изменению липидного профиля сыворотки крови.

У крыс опытных групп выявлено снижение уровня триглицеридов, холестерина общего (табл. 1). На основании полученных данных по изменению липидного профиля крови можно предположить, что крыс опытных групп происходит усиление мембраногенеза, интенсификация превращения холестерина в желчные кислоты в печени животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В эксперименте на крысах показано, что введение КК 20-ГЭ с АГ в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг способствует интенсификации обмена веществ, в частности улучшается липидный обмен, усиливаются биосинтетические и биоэнергетические процессы в их организме. Следует отметить, что наилучшие результаты были получены при дозе 1,0 мг/кг массы тела животных. Не установлено различий по особенностям влияния КК 20-ГЭ с АГ на физиологический статус организма крыс разного пола.

Physiological and biochemical status in laboratory animals during the administration of clathrate complex 20-hydroxyecdysone with arabinogalactan. Fedorova A.V.¹, post-graduate student, Erimbetov K.T.^{1,2}, Doctor of Biological Sciences, Zemlyanoy R.A.¹ - post-graduate student, Obvintseva O.V.¹, Ph.D. ¹L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry - All-Russian Research Institute of Animal Physiology, Biochemistry, and Nutrition, ²OOO Research Center "Park of Active Molecules"

ABSTRACT

Ecdysteroids are a group of polyhydroxylated steroid compounds, which are one of the most widespread and numerous families of steroid compounds in the biosphere and possess a variety of biological activities: adaptogenic, anabolic, antitoxic, stress and organoprotective, antidiabetic, etc. For physiological studies, a lattice active clathrate complex (CC) of 20-hydroxyecdysone (20-HE) was created based on the synthesis of a supramolecular compound with arabinogalactan (AG) by clathration. The aim of the study was to assess the physiological status of the organism of Wistar rats after administration of CC 20-HE with AG. The experiments were carried out on 110 male and female rats. The rats were divided into 4 groups. Group I rats were injected with an aqueous solution of AG; Group II - CC 20-HE with AG at a dose of 1.0 mg / kg; Group III - CC 20-HE with AG at a dose of 5.0 mg / kg. It has been shown in rats that the administration of CC 20-HE with AG at doses of 1.0 and 5.0 mg / kg promotes the inten-

sification of metabolism, in particular, lipid metabolism improves, and biosynthetic and bioenergetic processes in their bodies are enhanced. The increase in anabolic processes in the body of rats of the experimental groups is evidenced by data on an increased level of total protein and albumin, a higher activity of creatine kinase and alkaline phosphatase against a background of low concentrations of urea, triglycerides and cholesterol. In rats receiving CC 20-HE with AG, an increase in bioenergetic processes was noted towards the most effective aerobic phase of energy production in order to provide equivalents of an increasing energy-consuming protein-synthesizing system. It should be noted that the best results were obtained at a dose of 1.0 mg / kg of body weight in rats.

ЛИТЕРАТУРА

1. Володин В.А., Сидорова Ю. С., Мазо В.К. 20-гидроксиэкдизон – растительный адаптоген: анаболическое действие, возможное использование в спортивном питании // Вопросы питания – 2013 – Т. 82 – № 6 – С. 24-30.
2. Васильев, А.С., Абдрашитова (Поломеева), Н.Ю., Удуг, В.В. Экдистероиды и их биологическая активность // Растительные ресурсы. 2015. Т. 51. № 2. С. 229-259.
3. Еримбетов К.Т., Обвинцева О.В., Соловьева А.Г., Федорова А.В., Земляной Р.А. Сигнальные пути и факторы регуляции синтеза и распада белков в скелетных мышцах (обзор) // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2020. - № 1. - С. 24-33.
4. Жаворонков Л.П. Основы прикладной медико-биологической статистики. Методическое пособие. Обнинск: ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России, 2012. 60 с.
5. Ипатов О.М., Медведева Н.В., Вахрушева С.И., Дружиловская О.С., Тихонова Е.Г., Сагдуллаев Ш.Ш., Сыров В.Н., Хушбакова З.А., Турсунова Н.В. Фосфолипидная композиция экдистена, обладающая адаптогенной и гепатопротекторной активностью: патент РФ. – № 2575561. – 2016. – Бюлл. № 5.
6. Медведева Е.Н., Неверова Н.А., Федорова Т.Е., Бабкин В.А., Метелева Е.С., Душкин А.В., Толстикова Т.Г., Хвостов М.В., Долгих М.П. Структурные превращения арабиногалактана из лиственницы сибирской при механохимической обработке и биологические свойства продуктов // Химия растительного сырья. – 2009. - № 3. – С. 49-56.
7. Сыров В.Н., Шахмурова Г.А., Хушбакова З.А., Эгамова Ф.Р., Осипова С.О. Сравнительное изучение регулирующего влияния экдистерона и ретаболила на белоксинтезирующие процессы в организме высших животных // Теоретическая и практическая экология. 2012. № 1. С. 13-17.
8. Тимофеев Н.П. Промышленные источники получения экдистероидов. Часть I. Ponasterone и muristerone // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сб. науч. трудов. М., РАН. 2003. № 9. С. 64-86.
9. Buniam J., Chukijrunroat N., Rattanavichit Y., Surapongchai J., Weerachayaphorn J., Bupha-Intr T., Saengsirisuwan V. 20-Hydroxyecdysone ameliorates metabolic and cardiovascular dysfunction in high-fat/high-fructose-fed ovariectomized rats. (BMC) Complement. Med. Therap. 2020, 20: 140-152. <<https://doi.org/10.1186/s12906-020-02936-1>>
10. Dinan L., Mamadalieva N. Z., Lafont R. Dietary Phytoecdysteroids // Handb. Diet. Phytochem. 2020. Vol. 79. P. 1-54. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-1745-3_35-1>
11. Khaziev D., Galina C., Gadiev R., Valitov F., Gumarova G., Galyautdinov I. Phytoecdysteroids from *Serratula coronata* when growing ducklings // Res. Veter. Sci. 2020. Vol. 128. P. 170-176. <<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.11.012>>
12. Mallek A., Movassat J., Ameddah S., Liu J., Semiane N., Khalkhal A., Dahmani Y. Experimental diabetes induced by streptozotocin in the desert gerbil, *Gerbillus gerbillus*, and the effects of short-term 20-hydroxyecdysone administration // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2018. Vol. 102. P. 354-361. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.03.070. Epub 2018 Mar 22.