

Профилактическая токсикология и гигиеническое нормирование

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 615.322.03:616-099-02::546.17

Кушнерова Н.Ф.¹, Момот Т.В.^{2,3}, Рахманин Ю.А.⁴, Фоменко С.Е.¹, Спрыгин В.Г.¹, Другова Е.С.¹, Мерзляков В.Ю.¹, Лесникова Л.Н.¹

ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ КАЛИНЫ И ЭЛЕУТЕРОКОККА НА СОСТАВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ФОСФОЛИПИДНЫХ ФРАКЦИЙ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ОКСИДАМИ АЗОТА

¹ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, 690041, Владивосток;

²ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет, Школа биомедицины, 690950, Владивосток;

³Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, 690041, Владивосток;

⁴«НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина» ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, 119991, Москва

Введение. Представлены результаты исследования влияния интоксикации оксидами азота на жирнокислотный состав фосфатидилхолина и фосфатидилэтанолamina мембран эритроцитов крыс.

Материал и методы. Ингаляционное воздействие оксидами азота осуществляли в затравочной камере объёмом 100 л, сконструированной по типу камер Б.А. Курляндского с автономной системой очистки и регенерации воздуха, заданных параметров температуры 20–22 °С и влажности воздуха 40–60%. Интоксикация оксидами азота осуществлялась в течение 6 мин в концентрации 4,3 мг/м³ (ПДК в атмосферном воздухе составляет 0,4 мг/м³). Для части животных в течение двух недель до интоксикации вводили внутримышечно через зонд водные растворы сухих экстрактов, полученных из калины («Калифен») и из элеутерококка (предварительно освобождённых от спирта путём упаривания в вакууме) в дозе 100 мг общих фенолов/кг массы тела.

Результаты. Показано, что влияние оксидов азота сопровождается увеличением количества всех видов насыщенных жирных кислот и снижением ненасыщенных жирных кислот в составе фосфатидилхолина и фосфатидилэтанолamina как основных структурных фосфолипидов биологических мембран. Перераспределение в мембране эритроцитов жирных кислот предполагает изменение её физико-химических свойств, проницаемости, лабильности и сложности прохождения эритроцита по микроциркулярному руслу. Профилактическое введение растительных экстрактов калины и элеутерококка сопровождалось тенденцией к восстановлению соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в фосфолипидах мембран эритроцитов и повысило выживаемость животных при интоксикации оксидами азота, при этом влияние экстракта калины было более выраженным.

Ключевые слова: оксиды азота; эритроциты; фосфатидилхолин; фосфатидилэтанолamin; жирно-кислотный состав.

Для цитирования: Кушнерова Н.Ф., Момот Т.В., Рахманин Ю.А., Фоменко С.Е., Спрыгин В.Г., Другова Е.С., Мерзляков В.Ю., Лесникова Л.Н. Профилактическое воздействие растительных экстрактов калины и элеутерококка на состав жирных кислот фосфолипидных фракций мембран эритроцитов при интоксикации оксидами азота. *Гигиена и санитария*. 2018; 97(2): 188-192. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-2-188-192>

Для корреспонденции: Кушнерова Наталья Фёдоровна, доктор биол. наук, проф., зав. лаб. биохимии Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН. E-mail: natasha50@mail.ru.

Kushnerova N.F.¹, Momot T.V.^{2,3}, Rakhmanin Yu.A.⁴, Fomenko S.E.¹, Sprygin V.G.¹, Drugova E.S.¹, Merzliakov V.Yu.¹, Lesnikova L.N.¹

THE EXPERIMENTAL STUDY OF THE PREVENTIVE TREATMENT WITH VIBURNUM SARGENTII K. AND ELEUTHEROCOCCUS ON THE COMPOSITION OF FATTY ACIDS IN PHOSPHOLIPID COMPONENTS OF ERYTHROCYTE MEMBRANES EXPOSED TO INTOXICATION WITH NITRIC OXIDES

¹V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Vladivostok, 690041, Russian Federation;

²Far Eastern Federal University, School of biomedicine, Vladivostok, 690950, Russian Federation;

³National Scientific Center of Marine Biology, Vladivostok, 690041, Russian Federation;

⁴Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, 119991, Russian Federation

There are presented results of the study of the impact of intoxication with nitrogen oxides on to the fatty acids pattern of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine of erythrocyte membrane in rats. The inhalation exposure with nitrogen oxides was carried out in inoculating chamber with the volume of 100 liters and designed according to the type of chambers by Kurliandsky B.A. with self-cleaning of contained air and regenerating system, specified temperature settings (20-22°C) and the air humidity (40-60%). Intoxication by nitrogen oxides was performed during 6 minutes with a toxicant concentration of 4.3 mg/cu.m. (MAC in atmospheric air amount to 0.4 mg/m³). Water solutions of dry residue from viburnum extract "Kaliphen" and Eleutherococcus extract (alcohol was anticipatorily removed from preparations by evaporating in a vacuum) were administered daily through the tube intragastrically

during 2 weeks in a dosage of 100 mg of total polyphenols per kg of body weight prior to intoxication by nitrogen oxides. The influence of nitrogen oxides was found to be accompanied by the elevation of the level of saturated fatty acids of all kinds and by the decline in unsaturated fatty acids content in the fatty acids pattern of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine, the main structural phospholipids of biomembranes. The redistribution of fatty acids in erythrocyte membrane supposes the changes of its physicochemical properties, lability, and the complexity of the erythrocyte passage through the microvascular bed. Herbal polyphenol preparations Kaliphen and Eleutherococcus improved the survival rate of animals under the preventive administration before intoxication with nitrogen oxides. The introduction of extracts before intoxication is accompanied by the pronounced trend to the restoration of the ratio of saturated and unsaturated fatty acids in phospholipids of erythrocytes membranes. The preventive administration of Kaliphen before intoxication with nitrogen oxides was supposed to offer more pronounced protection of the fatty acids pattern of phospholipid fractions than those following the introduction of Eleutherococcus. The preventive administration of herbal extracts with polyphenol complexes in its contents under exposure to toxic substances is considered to be a the promising direction for research

Key words: nitrogen oxides; erythrocytes; phosphatidylcholine; phosphatidylethanolamine; saturated fatty acids; unsaturated fatty acids

For citation: Kushnerova N.F., Momot T.V., Rakhmanin Yu.A., Fomenko S.E., Sprygin V.G., Drugova E.S., Merzliakov V.Yu., Lesnikova L.N. The experimental study of the preventive treatment with *Viburnum sargentii* K. and *Eleutherococcus* on the composition of fatty acids in phospholipids components of erythrocyte membranes exposed to intoxication with nitric oxides. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2018; 97(2): 188-192. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-2-188-192>

For correspondence: Natalya F. Kushnerova, MD, Ph.D., DSci., The head of the Department of Biochemical Technologies of the Subdivision: Laboratory of Biochemistry of the V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, Vladivostok, 690041, Russian Federation. E-mail: natasha50@mail.ru

Information about authors:

Momot T.V., <http://orcid.org/0000-0003-3873-0343>; Rakhmanin Yu.A., <http://orcid.org/0000-0003-2067-8014>

Fomenko S.E., <http://orcid.org/0000-0002-0261-0190>; Drugova E.S., <http://orcid.org/0000-0002-7472-5958>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received: 11 July 2017

Accepted: 18 October 2017

Введение

Постоянно возрастающее загрязнение окружающей среды азотсодержащими соединениями способствует увеличению их поступления разными путями в организм человека и животных, где, проходя многочисленные превращения, они вызывают определённые нарушения в обмене электролитов, в процессах аэробного окисления и образования гемоглобина, что может привести к поражению органов и тканей [12]. Оксиды азота являющиеся распространёнными загрязнителями атмосферного воздуха и относятся к классу высокоопасных химических веществ.

В организм человека они попадают ингаляционным путём, с водой и пищей [10]. Оксиды азота образуются при высокой температуре (свыше 1300 °С) и высоком давлении, что характерно для процессов, происходящих в камере сгорания двигателя при сжигании моторного, авиационного и ракетного топлива, где они применяются в качестве окислителей [11]. Больше всего оксидов азота производят дизели, поскольку давление и температура в их камерах сгорания выше, чем у бензиновых двигателей [2]. Активной формой оксидов азота является нитроксид-радикал (NO[•]). Потенциальная опасность, исходящая от вдыхания паров этих веществ на организм человека или их употребления с водой и продуктами питания, обусловлена активацией свободнорадикальных реакций, перекисидацией липидов, формированием тканевой гипоксии и нарушением детоксикационной функции печени [7].

Установлено, что длительный контакт с нитрогенами приводит к тенденции снижения содержания эритроцитов, достоверному повышению их объёма, а также к увеличению проницаемости мембран [4]. Одновременно возрастает количество свободных SH-групп, интенсифицируется перекисное окисление липидов, снижается уровень окисленной формы глутатиона, увеличивается ксантиноксидазная активность, что характерно для гипоксических состояний [5]. Чрезмерное накопление оксида азота в организме влияет на возникновение злокачественных новообразований. На различных видах животных (крысы, мыши, коровы) была показана возможность злокачественной трансформации клеток в результате воздействия нитритов, а также наличие у нитритов свойств промотора канцерогенеза [6]. При увеличении нитритной

интоксикации организма идет интенсификация метгемоглобинообразования в эритроцитах, снижающая кислородную ёмкость крови.

Учитывая важную роль липидного компонента мембраны эритроцита в обеспечении метаболической и функциональной полноценности красных клеток крови, изучение жирнокислотного состава фосфолипидов их мембран, в частности основных структурных фосфолипидов – фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, может служить надёжным критерием протекающих в организме на клеточном уровне процессов токсического воздействия оксидов азота. Таким образом, проживание людей в зонах риска техногенных катастроф, в экологически неблагоприятных регионах требует поиска нетрадиционных подходов к фармакопрофилактике возникающих нарушений здоровья. Применение препаратов, осуществляющих антиоксидантную защиту мембранных структур при различных видах токсического воздействия, является важным этапом системы профилактики.

В настоящее время наиболее широкой популярностью пользуются природные растительные фенольные соединения, защитное действие которых при гипоксии связывают с их антиоксидантными и протонаторными свойствами [13]. Ранее нами были опубликованы данные, свидетельствующие о широком спектре биологической активности экстрактов, выделенных из отходов от переработки дикорастущих видов растений Дальневосточной тайги, благодаря проявлению ими антиоксидантных, антирадикальных, мембрано- и гепатопротекторных свойств [14]. В связи с этим была создана и предлагается к употреблению биологически активная добавка к пище «Калифен» с антирадикальными свойствами (патент RU № 2199249, ТУ 9168-079-00480052-07, свидетельство на товарный знак RU № 228327), которая была выделена из отжима после отделения сока ягод калины Саржента (*Viburnum sargentii* Koehne).

Химический состав препарата был исследован с помощью жидкостного хроматографа «Controller LCC 500» (Pharmacia). «Калифен» – водно-спиртовой (40%) экстракт, который представляет собой композицию различных классов веществ, в которой полифенолы составляют свыше 60% сухого остатка экстракта (лейкоантоцианы, катехины и их полимерные формы, олигомерные танины, лигнин, флаво-

Таблица 1

Влияние интоксикации оксидами азота на содержание основных видов жирных кислот в фосфатидилхолине эритроцитарных мембран крыс и его коррекция «Калифеном» и экстрактом элеутерококка (в % от суммы всех жирных кислот, $M \pm m$)

Жирные кислоты	Группа животных			
	1	2	3	4
14:0	1,20 ± 0,05	1,63 ± 0,043	1,42 ± 0,022,в	1,68 ± 0,033,б
16:0	28,11 ± 0,68	32,21 ± 0,723	27,20 ± 0,46	27,88 ± 0,441
18:0	13,88 ± 0,27	16,11 ± 0,383	15,00 ± 0,28в	15,07 ± 0,24в
16:1	2,00 ± 0,03	2,54 ± 0,033	4,10 ± 0,053,в	4,73 ± 0,043
18:1	18,51 ± 0,45	19,96 ± 0,481	17,86 ± 0,25а	17,81 ± 0,23б
18:2 n-6	18,86 ± 0,50	16,43 ± 0,353	14,65 ± 0,43	14,00 ± 0,41
20:4 n-6	12,00 ± 0,51	8,10 ± 0,463	13,47 ± 0,35б	13,18 ± 0,43а
18:3 n-3	1,13 ± 0,02	1,00 ± 0,023	1,30 ± 0,03а	1,28 ± 0,06
20:5 n-3	1,31 ± 0,02	0,82 ± 0,013	1,66 ± 0,032,в	1,37 ± 0,033,в
22:6 n-3	3,00 ± 0,13	1,20 ± 0,113	3,34 ± 0,033,в	3,00 ± 0,023,в
Сумма насыщенных	43	50	46	47
Сумма ненасыщенных	57	50	54	53
Индекс насыщенности	0,75	1,00	0,85	0,89

Примечание. Здесь и в табл. 2: Различия статистически значимы при: ¹ – $p < 0,05$; ² – $p < 0,01$; ³ – $p < 0,001$ по сравнению с контролем; а – $p < 0,05$; б – $p < 0,01$; в – $p < 0,001$ по сравнению со 2-й группой. 14:0 – миристиновая, 16:0 – пальмитиновая, 16:1 – пальмитолеиновая, 18:0 – стеариновая, 18:1 – олеиновая, 18:2 – линолевая, 18:3 – линоленовая, 20:4 – арахидоновая, 20:5 – эйкозапентаеновая, 22:6 – докозагексаеновая жирные кислоты.

нолы) [13]. В качестве препарата сравнения использовали «Экстракт элеутерококка», защитное действие которого при гипоксии связывают с регулирующим влиянием на углеводный и липидный обмен [9].

Целью работы явилось изучение профилактического влияния экстракта из калины «Калифен» и элеутерококка на состав жирных кислот фосфолипидных фракций мембран эритроцитов при моделировании у животных интоксикации оксидами азота.

Материал и методы

Эксперимент проводили на крысах линии Вистар массой 180 – 200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. Для интоксикации оксидами азота животных помещали в специальную затравочную камеру, сконструированную по типу камер Б.А. Курляндского, в условиях относительной влажности воздуха 40 – 60%, заданных параметров температуры 20 – 22 °С, с автономной системой очистки и регенерации воздуха. Интоксикация оксидами азота осуществлялась в течение 6 мин в концентрации 4,3 мг/м³ (ПДК в атмосферном воздухе составляет 0,4 мг/м³). Водные растворы сухого остатка из экстракта калины «Калифен» и экстракта элеутерококка (предварительно освобождённые от спирта экстракты путём упаривания в вакууме) вводили внутривенно через зонд в течение двух недель до интоксикации в дозе 100 мг общих фенолов/кг массы тела [3] с последующей интоксикацией оксидами азота.

Животные были разделены на 4 группы по 20 крыс в каждой: 1-я группа (контроль) – интактные животные; 2-я – интоксикация оксидами азота; 3-я группа – экстракт калины + оксиды азота; 4-я группа – экстракт элеутерококка + оксиды азота. Схема эксперимента заимствована из работы А.В. Кропотова [8]. Таким способом в эксперименте была смоделирована интоксикация при техногенной катастрофе с массивным выбросом оксидов азота. Крыс выводили из эксперимента декапитацией под лёгким эфирным наркозом через 60 мин после экспозиции оксидами азота с соблюдением «Правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986).

Выделение эритроцитов и получение эритроцитарных мембран осуществляли общепринятыми методами. Экстрак-

ты общих липидов из мембран эритроцитов готовили по методу J. Folch et al. [16]. Фракционное разделение фосфолипидов осуществляли методом двумерной микротонкослойной хроматографии на силикагеле [19]. Для определения жирнокислотного спектра фосфолипидных фракций их хлороформные экстракты подвергали метанолизу с хлористым ацетилом [1]. Эфиры жирных кислот анализировали на газовом хроматографе «ЛХМ-2000-05» (Россия), с пламенно-ионизационным детектором. Жирные кислоты идентифицировали двумя способами: путем сравнения удерживаемых объёмов в исследуемой смеси и с помощью отечественных стандартных препаратов метиловых эфиров жирных кислот (C₁₆-C₂₄).

Количественные данные обрабатывали с использованием статистического пакета Instat 3.0 (GraphPad. Software Inc. USA, 2005) со встроенной процедурой проверки соответствия выборки закону нормального распределения. Для определения статистической значимости различий в зависимости от параметров распределения использовали параметрический t-критерий Стьюдента или непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Исследование одобрено Комиссией по вопросам этики Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН.

Результаты

Выживаемость животных после интоксикации оксидами азота составляла 40% ($p < 0,001$), тогда как предварительное введение экстракта калины или элеутерококка способствовало выживаемости 70% животных. В жирнокислотном спектре фосфатидилхолина эритроцитарных мембран после интоксикации оксидами азота отмечалось высокое содержание насыщенных жирных кислот (см. табл. 1). Количество миристиновой кислоты было на 36% ($p < 0,001$) выше контроля, при этом количество пальмитиновой кислоты увеличилось на 15% ($p < 0,001$), а стеариновой кислоты – на 16% ($p < 0,001$). Эти изменения обусловили увеличение суммы насыщенных жирных кислот до 50% (в контроле 43%). Количество пальмитолеиновой кислоты превышало контроль на 27% ($p < 0,001$), а количество олеиновой кислоты – на 8% ($p < 0,05$).

В ряду полиненасыщенных жирных кислот вида n-6 отмечалось снижение содержания линолевой кислоты на 13% ($p < 0,001$) и арахидоновой кислоты на 32% ($p < 0,001$). В ряду жирных кислот вида n-3 снижалось количество линоленовой кислоты на 12% ($p < 0,001$), эйкозапентаеновой кислоты на 37% ($p < 0,001$) и докозагексаеновой кислоты на 60% ($p < 0,001$). В связи с этими изменениями сумма ненасыщенных жирных кислот снизилась до 50% (в контроле 57%), а индекс насыщенности увеличился до 1,00 (в контроле 0,75).

В составе фосфатидилэтаноламина эритроцитарных мембран крыс после интоксикации оксидами азота количественные характеристики жирных кислот также отличались относительно таковых показателей в контрольной группе (табл. 2).

Количество миристиновой кислоты увеличилось на 31% ($p < 0,001$), пальмитиновой кислоты – на 12% ($p < 0,001$), стеариновой кислоты – на 19% ($p < 0,001$). В связи с этим сумма насыщенных жирных кислот увеличилась до 58% (в контроле 51%). Среди моноеновых жирных кислот отмечалось увеличение количества пальмитолеиновой кислоты на 32% ($p < 0,001$), олеиновой кислоты – на 21% ($p < 0,001$). В ряду полиненасыщенных жирных кислот вида n-6 количество линолевой кислоты было снижено на 22% ($p < 0,001$), арахидоновой кислоты – на 25% ($p < 0,001$). В ряду полиненасыщенных жирных кислот вида n-3 содержание линоленовой кислоты снизилось на 26% ($p < 0,001$) относительно контро-

Влияние интоксикации оксидами азота на содержание основных видов жирных кислот в фосфатидилэтаноламинах эритроцитарных мембран крыс (в % от суммы всех жирных кислот, M±m)

Жирные кислоты	Группа животных			
	1	2	3	4
14:0	1,27 ± 0,02	1,66 ± 0,023	1,32 ± 0,04в	1,50 ± 0,053,а
16:0	31,22 ± 0,54	34,91 ± 0,593	29,27 ± 0,756	30,86 ± 0,742,а
18:0	18,26 ± 0,47	21,79 ± 0,433	14,26 ± 0,416	14,31 ± 0,396
16:1	4,00 ± 0,05	5,26 ± 0,063	2,21 ± 0,052,в	2,30 ± 0,043,в
18:1	8,17 ± 0,28	9,85 ± 0,303	18,46 ± 0,52а	18,53 ± 0,50а
18:2 n-6	7,86 ± 0,37	6,12 ± 0,272	18,18 ± 0,486	17,75 ± 0,43а
20:4 n-6	23,11 ± 0,58	17,44 ± 0,453	11,78 ± 0,54в	10,43 ± 0,511,6
18:3 n-3	1,36 ± 0,04	1,00 ± 0,033	1,10 ± 0,03а	1,09 ± 0,03а
20:5 n-3	1,18 ± 0,01	0,67 ± 0,023	1,00 ± 0,023,в	0,92 ± 0,023,в
22:6 n-3	3,57 ± 0,04	1,30 ± 0,023	2,42 ± 0,122,в	2,31 ± 0,083,в
Сумма насыщенных	51	58	52	54
Сумма ненасыщенных	49	42	48	46
Индекс насыщенности	1,04	1,38	1,08	1,17

ля, при этом количество эйкозапентаеновой кислоты уменьшилось на 43%, а докозагексаеновой кислоты – на 64% ($p < 0,001$). Сумма ненасыщенных жирных кислот составляла 42% (в контроле 49%), а индекс насыщенности – 1,38 (в контроле 1,04). Таким образом, в эритроцитарных мембранах крыс после интоксикации оксидами азота происходит изменение молекулярных видов фосфолипидов в сторону большей насыщенности, чем у контрольных животных.

При профилактическом введении калифена или экстракта элеутерококка до интоксикации оксидами азота некоторые количественные характеристики жирных кислот в составе фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина мембран эритроцитов статистически достоверно отличались как от контрольных значений, так и от соответствующих величин во 2-й группе (см. табл. 1, 2). Так, в составе фосфатидилхолина мембран эритроцитов 4-й группы крыс (профилактика элеутерококком) в ряду насыщенных жирных кислот отмечалось достоверное увеличение количества миристиновой кислоты (на 25%, $p < 0,001$) относительно контроля. В то же время при сравнении её величины с таковой во 2-й группе (оксиды азота без препаратов) отмечалось снижение её количества при введении элеутерококка (на 8%, $p < 0,05$) и ещё больше при введении «Калифена» (на 19%, $p < 0,001$). Также было выше контроля на 10% ($p < 0,01$) значение пальмитиновой кислоты в 4-й группе. При сравнении со 2-й группой количество пальмитиновой кислоты в 3-й и 4-й группах снизилось в среднем на 5-6% ($p < 0,05-0,01$), а количество стеариновой кислоты равнозначно уменьшилось на 11% ($p < 0,01$). В ряду моноеновых жирных кислот достоверно выше контроля было количество пальмитолеиновой кислоты в 3-й группе – на 11% ($p < 0,01$), в 4-й группе – на 15% ($p < 0,001$), тогда как по сравнению со 2-й группой её количество при введении «Калифена» было снижено на 13% ($p < 0,001$), а элеутерококка – на 9% ($p < 0,001$). Также по сравнению со 2-й группой было снижено количество олеиновой кислоты в составе фосфатидилхолина при введении обоих растительных экстрактов в среднем на 7-8% ($p < 0,05$).

В ряду полиненасыщенных жирных кислот вида n-6 следует отметить увеличение количества линолевой кислоты относительно 2-й группы: при введении «Калифена» – на 11% ($p < 0,01$) и элеутерококка – на 8% ($p < 0,05$). В то же время количество арахидоновой кислоты при введении экстракта калины относительно 2-й группы увеличилось на 45% ($p < 0,001$), а элеутерококка – на 29% ($p < 0,01$). В ряду полиненасыщенных жирных кислот вида n-3 отмечалось увеличение количества линоленовой кислоты при введении обоих растительных экстрактов в среднем на 9-10% ($p < 0,05$) по сравнению с таковой величиной во 2-й группе. Анализ величин эйкозапентаеновой кислоты в составе фосфатидилхолина показал достоверное снижение относительно контроля в 3-й группе на 24% ($p < 0,001$), в 4-й группе – на 30% ($p < 0,001$), тогда как при сравнении со 2-й группой введение «Калифена» сопровождалось увеличением этого показателя на 22% ($p < 0,001$), элеутерококка – на 12% ($p < 0,001$). Количество докозагексаеновой кислоты по сравнению с контролем было достоверно ниже в 3-й группе – на 19% ($p < 0,01$), в 4-й группе – на 23% ($p < 0,001$). В то же время, по сравнению со 2-й группой количество докозагексаеновой кислоты при введении калифена увеличилось в 2 раза, а при введении элеутерококка – на 93% ($p < 0,001$). Сумма насыщенных жирных кислот при профилактическом введении «Калифена» составляла 46%, ненасыщенных жирных кислот – 54%, индекс насыщенности – 0,85. При профилактическом введении элеутерококка сумма на-

сыщенных жирных кислот составляла 47%, ненасыщенных жирных кислот – 53%, индекс насыщенности – 0,89.

Профилактическое введение экстракта элеутерококка сопровождалось увеличением в составе фосфатидилэтаноламина количества миристиновой кислоты на 13% ($p < 0,001$) относительно контроля, а относительно 2-й группы – снижением величины этой кислоты на 14% ($p < 0,001$). В то же время при профилактическом введении «Калифена» по сравнению со 2-й группой её значение снизилось на 19% ($p < 0,001$). Количество пальмитиновой кислоты при введении «Калифена» относительно контроля было выше на 7% ($p < 0,01$), тогда как по сравнению со 2-й группой отмечалось снижение её величины на 8% ($p < 0,01$), а элеутерококка – на 5% ($p < 0,05$). Количество стеариновой кислоты в составе фосфатидилэтаноламина при введении растительных экстрактов по сравнению со 2-й группой снизилось в среднем на 13-14% ($p < 0,001$).

В ряду моноеновых жирных кислот следует отметить увеличение пальмитолеиновой кислоты в 3-й группе относительно контроля на 18% ($p < 0,001$), в 4-й группе – на 25% ($p < 0,001$), однако по сравнению этих величин с таковыми во 2-й группе значение этой жирной кислоты снизилось: в 3-й группе на 10% ($p < 0,001$), в 4-й группе на 5% ($p < 0,01$). Величина олеиновой кислоты при введении обоих растительных экстрактов относительно 2-й группы была снижена: при введении «Калифена» на 10% ($p < 0,05$) и элеутерококка на 15% ($p < 0,01$).

В ряду полиненасыщенных жирных кислот вида n-6 количество арахидоновой кислоты достоверно отличалось от такового уровня во 2-й группе: при введении «Калифена» увеличение составляло 29% ($p < 0,001$), элеутерококка – 23% ($p < 0,001$). В ряду полиненасыщенных жирных кислот вида n-3 следует отметить увеличение количества линоленовой кислоты при введении обоих растительных экстрактов в среднем на 27-28% ($p < 0,001$). Количество эйкозапентаеновой кислоты в составе фосфатидилэтаноламина в 3-й группе было ниже контроля на 28% ($p < 0,001$), в 4-й группе – на 34% ($p < 0,001$), однако по сравнению с величиной этой кислоты во 2-й группе введение «Калифена» сопровождалось увеличением эйкозапентаеновой кислоты на 27% ($p < 0,001$), элеутерококка – на 16% ($p < 0,01$). Значение докозагексаеновой кислоты в 3-й группе относительно контроля было снижено на 24% ($p < 0,001$), в 4-й группе – на 30% ($p < 0,001$). В то же время при сравнении величин этой кислоты с таковой во 2-й группе следует отметить увеличение при введении «Калифена» в 2 раза, а при введении элеутерококка – на 93% ($p < 0,001$).

Сумма насыщенных жирных кислот в составе фосфатидилэтаноламина при введении «Калифена» составляла 52%, ненасыщенных жирных кислот – 48%, индекс насыщенности – 1,08.

При введении элеутерококка сумма насыщенных жирных кислот в составе фосфатидилэтаноламина составляла 54%, ненасыщенных жирных кислот – 46%, индекс насыщенности – 1,17.

Обсуждение

Изменение молекулярных видов фосфолипидов в мембранах эритроцитов, увеличение насыщенных жирных кислот в составе фосфолипидных фракций мембран эритроцитов свидетельствуют о наличии деструктивных процессов в мембране под действием оксидов азота. Рост насыщенных жирных кислот обусловлен их синтезом из ацетил-КоА, который в избытке образуется при химическом стрессе в результате активации липолиза в жировой ткани [15]. В то же время снижен синтез полиненасыщенных жирных кислот в результате ингибирования процессов элонгации и десатурации, что приводит к дефициту арахидоновой и эйкозапентаеновой жирных кислот. Увеличение количества насыщенных жирных кислот и снижение количества ненасыщенных жирных кислот способствовало росту индекса насыщенности. Перераспределение в мембране эритроцитов жирных кислот предполагает изменение её физико-химических свойств, проницаемости, лабильности и сложности прохождения эритроцита по микроциркулярному руслу.

Перспективными корректорами метаболических изменений, возникающих при химических интоксикациях, являются природные фенольные соединения, оказывающие антиоксидантное и антирадикальное действие и являющиеся «ловушками» свободных радикалов [20]. Фенольные соединения защищают фосфолипиды мембран от атаки свободных радикалов. Молекулы полифенолов взаимодействуют с поверхностью мембран и этим увеличивают прочность поверхностного слоя клеток, что сохраняет осмотическую устойчивость эритроцитов к гемолизирующему агенту и их размерные характеристики [18]. Растительные фенольные препараты «Калифен» и элеутерококк повышают выживаемость животных при профилактическом введении до интоксикации оксидами азота.

При анализе величин отклонений исследованных жирных кислот в фосфатидилхолине и фосфатидилэтанолаmine эритроцитарных мембран крыс при профилактическом введении растительных экстрактов до интоксикации оксидами азота от таковых величин при непосредственной интоксикации были выявлены наиболее значимые эффекты у экстракта «Калифен». Следует отметить, что в составе экстракта элеутерококка (препарат сравнения) преимущественно входят фенольные кислоты (галловая, хлорогеновая, кофейная, протокатеховая), а также циклогексалигнаны – лигнан синрингарезинол (элеутерозиды) из корневич и корней элеутерококка колючего, проявляющие высокую активность только в отношении супероксид-радикала кислорода, но не к остальным, подчас намного более активным радикалам [17]. В то же время в составе экстракта «Калифен» кроме фенольных кислот содержатся фенольные соединения с двумя ароматическими кольцами: кверцетин, кверцетин-3-О-рутинозид, кверцетин-3-О-гликозид, олигомерные проантоцианидины. По-видимому, присутствие флавоноидов с двумя ароматическими кольцами, а также олигомеров обуславливает большую биологическую активность у экстракта «Калифен», чем у экстракта элеутерококка.

Заключение

Результаты проведённого исследования позволяют предположить, что профилактическое применение экстрактов растительного происхождения, содержащих комплексы фенольных соединений, может быть полезным и перспективным при воздействии химических веществ на организм, что позволит эффективно бороться с последствиями комплексного воздействия химических веществ, а также увеличит профессиональное и биологическое долголетие людей, проживающих и работающих в зонах техногенных катастроф и в экологически неблагоприятных регионах.

Финансирование: Работа поддержана Министерством образования и науки РФ, проект № 14-50-00034.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература (п.п. 16-20 см. References)

1. Берчфилд Г., Сторрс Э. *Газовая хроматография в биохимии*. Пер. с англ. М.: Мир; 1964.
2. Варламов В.Н. Чем нас «одаривает» дизельный грузовик? *Экологический вестник России*. 2008; (2): 10-1.
3. Венгеровский А.Н., Маркова И.В., Саратиков А.С. Доклиническое изучение гепатопротективных средств. *Ведомости фармакологического комитета*. 1999; 2: 9-12.
4. Иванова А.С., Пахрова О.А., Назаров С.Б. Влияние длительной нитритной интоксикации на эритроцитарную систему беременных крыс и их потомство. *Гигиена и санитария*. 2007; 86(2): 63-6.
5. Иванова А.С., Ситникова О.Г., Назаров С.Б. Состояние свободнорадикальных процессов у беременных крыс и их плодов при хронической нитритной интоксикации. *Гигиена и санитария*. 2008; 87(4): 72-5.
6. Ильницкий А.П. Нитраты и нитриты питьевой воды как фактор онкологического риска. *Гигиена и санитария*. 2003; 82(3): 81-3.
7. Кушенко С.А. *Основы токсикологии*. М.: Медицина; 2002.
8. Кропотов А.В. *Экспериментальный отек легких и его фармакопрофилактика антигипоксантами*. Автореф. дисс. ... д-ра. мед. наук. СПб.; 1997.
9. Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А. Влияние интоксикации оксидами азота на метаболические реакции печени и профилактики поражений. *Гигиена и санитария*. 2008; 87(1): 70-3.
10. Малышева А.Г., Сотников Е.Е., Московкин А.С. Несимметричный диметилгидразин в окружающей среде: проблемы контроля и пути их решения. *Гигиена и санитария*. 2003; 82(5): 74-5.
11. Сидоров П.И., Скребцова Н.В., Совершаева С.Л. Медико-экологические аспекты здоровья населения на территориях ракетно-космической деятельности. *Гигиена и санитария*. 2006; 85(3): 11-5.
12. Сотникова А.А., Сотникова М.В., Демьянова В.С. Влияние загрязнения атмосферного воздуха на заболеваемость населения на примере Пензенской области и г. Пензы. *Экология и промышленность России*. 2006; (8): 44-5.
13. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Калина – новый нетрадиционный источник олигомерных проантоцианидинов. *Химико-фармацевтический журнал*. 2004; 38(2): 41-5.
14. Спрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Фоменко С.Е. Отходы от переработки дальневосточных дикоросов – перспективные источники пищевых антиоксидантов. *Известия Самарского научного центра РАН*. 2010; 12(1): 812-5.
15. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Момот Т.В. Нарушение обменных процессов в печени крыс под действием стресса. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2013; (2): 67-70.

References

1. Burchfield H.P., Storrs E.E. *Biochemical Application of Gas Chromatography*. New York: Academic Press; 1962.
2. Varlamov V.N. What is the "gift" of a diesel truck? *Ekologicheskij vestnik Rossii*. 2008; (2): 10-1.
3. Vengerovskiy A.N., Markova I.V., Saratikov A.S. Preclinical study of hepatoprotective agents. *Vedomosti farmakologicheskogo komiteta*. 1999; 2: 9-12.
4. Ivanova A.S., Pakhrova O.A., Nazarov S.B. Effect of prolonged nitrite intoxication on the erythrocyte system of pregnant rats and their offspring. *Gigiena i sanitariya*. 2007; 86(2): 63-6.
5. Ivanova A.S., Sitnikova O.G., Nazarov S.B. The state of free radical processes in pregnant rats and their fetuses in chronic nitrite toxicity. *Gigiena i sanitariya*. 2008; 87(4): 72-5.
6. Il'nikitskiy A.P. Nitrates and nitrites of drinking water as a factor of cancer risk. Hygiene and sanitation. *Gigiena i sanitariya*. 2003; 82(3): 81-3.
7. Kutsenko S.A. *Fundamentals of Toxicology [Osnovy toksikologii]*. Moscow: Meditsina; 2002.
8. Kropotov A.V. Experimental pulmonary edema and its pharmacoprophylaxis with antihypoxants: Diss. St. Petersburg; 1997.
9. Kushnerova N.F., Rakhmanin Yu.A. The effect of nitrogen oxide intoxication on the metabolic reactions of the liver and the prevention of lesions. *Gigiena i sanitariya*. 2008; 87(1): 70-3.
10. Malysheva A.G., Sotnikov E.E., Moskovkin A.S. Unbalanced dimethylhydrazine in the environment: control problems and ways to solve them. *Gigiena i sanitariya*. 2003; 82(5): 74-5.
11. Sidorov P.I., Skrebtsova N.V., Sovershaeva S.L. Medico-ecological aspects of population health in the territories of rocket and space activities. *Gigiena i sanitariya*. 2006; 85(3): 11-5.
12. Sotnikova A.A., Sotnikova M.V., Dem'yanova V.S. Influence of atmospheric air pollution on the incidence of the population on the example of the Penza region and the city of Penza. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii*. 2006; (8): 44-5.
13. Sprygina V.G., Kushnerova N.F. Kalina is a new unconventional source of oligomeric proanthocyanidins. *Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal*. 2004; 38(2): 41-5.
14. Sprygina V.G., Kushnerova N.F., Fomenko S.E. Waste from the processing of Far Eastern wild plants is a promising source of food antioxidants. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2010; 12(1): 812-5.
15. Fomenko S.E., Kushnerova N.F., Sprygina V.G., Momot T.V. Disturbance of metabolic processes in the liver of rats under the influence of stress. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; (2): 67-70.
16. Folch J., Less M., Sloane-Stanley G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* 1957; 226(1): 497-509.
17. Sija A., Scalese M., Lanza M. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes. *Free Radic. Biol. Med.* 1995; 19(4): 481-6.
18. Sirk T.W., Friedman M., Brown E.F. Molecular binding of black tea theaflavins to biological membranes: relationship to bioactivities. *J. Agric. Food Chem.* 2011; 59(8): 3780-7.
19. Svetachev V.I., Vaskovsky V.E. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids. *J. Chromatogr.* 1972; 67(2): 376-8.
20. Valko M., Leibfriz D., Moncol J. Free radicals and antioxidant in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007; 39(1): 44-84.

Поступила 11.07.17

Принята к печати 18.10.17