



Учредитель – Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных  
и ароматических растений (ВИЛАР) Российской академии сельскохозяйственных наук

# ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

PROBLEMS OF BIOLOGICAL, MEDICAL  
AND PHARMACEUTICAL CHEMISTRY

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор БЫКОВ В. А.

БЕРЕЗОВ Т. Т.  
БАВИЛОВА Т. П.  
ГЛУШКОВ Р. Г.  
ГНУЧЕВ Н. В.  
ДАРГАЕВА Т. Д.  
ДУБИНСКАЯ В. А.  
ИПАТОВА О. М.  
КОЛХИР В. К.  
КУШЛИНСКИЙ Н. Е. (зам. главного редактора)  
МАТВЕЙЧУК И. В. (ответственный секретарь)  
МИРОШНИКОВ А. И. (зам. главного редактора)  
НИКИТИНА З. К.  
ПАНЧЕНКО Л. Ф.  
СВЕШНИКОВ П. Г.  
СЕВЕРИН Е. С. (зам. главного редактора)  
СОКОЛЬСКАЯ Т. А.  
ТЕРЕНТЬЕВ А. А.  
ТИГРАНЯН Р. А.  
ТИТОВА А. В.  
ЧЕРНОВ Н. Н.  
ШВЕЦ В. И.  
ЯРОВАЯ Г. А.

НАУЧНО-ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ  
ЖУРНАЛ

ОСНОВАН В 1998 г.

ВКЛЮЧЕН В СПИСОК ВАК

Библиотека  
Владивостокского  
медуниверситета  
г. Владивосток, Острикова-2

8  
2010

## ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО РАСТЕНИЯ МААКИИ АМУРСКОЙ У КРЫС ПОСЛЕ ОВАРИОЭКТОМИИ

© Авторы, 2010

**Т.М. Плотникова**

проф. кафедры фармакологии, ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава» (г. Томск).  
E-mail mbr2001@mail.ru

**З.Т. Шульгау**

аспирант каф фармакологии, ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава».

**А.М. Плотникова**

к.м.н., науч.сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения,  
ГУ НИИ фармакологии Томского научного центра Сибирского отделения РАМН.

**О.К. Алиев**

д.м.н., вед.науч.сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения,  
ГУ НИИ фармакологии Томского научного центра Сибирского отделения РАМН.

**Н. И. Кулеш**

к.х.н., ст.науч.сотрудник, Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (г. Владивосток).

**Н.П. Мищенко**

к.х.н., вед.науч.сотрудник, Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН.

**С.А. Федорев**

к.х.н., ст.науч.сотрудник, Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН.

Исследовано влияние экстракта маакии амурской (ЭМА) на уровень эстрадиола в плазме и реологические свойства крови у самок крыс Wistar после овариоэктомии. Произведена оценка гематокрита, уровня фибриногена, агрегации и деформируемости эритроцитов, вязкости крови до и после билатеральной овариоэктомии у крыс.

**Ключевые слова:** гемореологические параметры, овариоэктомия, изофлавоноиды, экстракт маакии амурской.

The effect of *Maackia amurensis* extract (EMA) on plasma estradiol and rheological properties of blood in female Wistar rats after ovariectomy was investigated. We measured the hematocrit, fibrinogen concentration, erythrocytes aggregation, erythrocytes deformability and the whole blood viscosity after bilateral ovariectomy in rats.

**Keywords:** hemorheological parameters, ovariectomy, isoflavonoids, extract from *Maackia amurensis*.

У женщины на фоне эстрогенного дефицита, вызванного естественной или хирургической менопаузой, отмечен значительный рост сердечно-сосудистых заболеваний, важным звеном патогенеза которых являются нарушения реологических свойств крови [1, 2]. Гормональная заместительная терапия уменьшает проявления климактерического синдрома, но не рекомендуется для длительного применения с целью уменьшения риска его сердечно-сосудистых осложнений [3]. Фитоэстрогены могут быть реальной альтернативой гормональной терапии в этих условиях. Объектом исследования был выбран полифенольный комплекс из древесины эндемичного приморского растения семейства бобовые – маакии амурской (*Maackia amurensis* Rupr. et. Maxim.), который зарегистрирован в качестве субстанции для изготовления лекарствен-

ных средств (Р №003309/01). Высокое содержание изофлавоноидов – фитоэстрогенов [4] в экстракте из древесины маакии амурской явилось основанием для изучения его эффектов у крыс после овариоэктомии.

Целью данной работы явилось изучение влияния экстракта маакии амурской на реологические свойства крови у крыс в условиях гипоэстрогемии, вызванной удалением яичников.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 22-х крысах-самках Вистар массой 300...350 г. Удаление яичников осуществляли под эфирным наркозом по общепринятой методике [5]. Крысы, у которых прово-

дили лапаротомию и ушивали рану, составили группу ложнопериованных животных. Экстракт маакки амурской (ЭМА) в дозе 200 мг/кг вводили внутривенно ежедневно в течение 14 дней, начиная с восьмых суток после овариоэктомии. Содержание полифенолов в ЭМА по данным ВЭЖХ составил: 21,6%; из них изофлавоноидов – 12,7%; стильбенов – 8,9% [4]. Крысы контрольной группы получали эквивалентное количество 1%-ной эвхмальной слизи. На 21-е сутки эксперимента рез 2 ч после последнего введения ЭМА или эвхмальной слизи у животных под эфирным наркозом забирали кровь для исследования. В пробах крови определяли содержание эстрадиола ИФА с помощью набора EIAgen Estradiol («Adaltis Italia S.p.A», Италия) на приборе «Пикон». В этих же пробах оценивали следующие реологические показатели: вязкость крови (при скоростях сдвига 300 с<sup>-1</sup>) и вязкость плазмы (при скорости сдвига 100 с<sup>-1</sup>) – на ротационном вискозиметре АКР-2 [6], агрегацию эритроцитов – силектометрическим методом в модификации [7], гематокрит – методом центрифугирования в стеклянных капиллярах, деформируемость эритроцитов – методом экстрактетрин [8], концентрацию фибриногена в плазме – методом торможения образования Клауса на коагулометре КС-1 («Синтау», Италия) с использованием набора реагентов для определения концентрации фибриногена «Фибриноген-тест» («Технология-Стандарт», Россия). Индекс эффективности

транспорта кислорода в ткани рассчитывали как отношение гематокрита к вязкости крови при различных скоростях сдвига [9]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ Statistica for Windows 6.0.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Уровень эстрадиола в крови ложнопериованных самок составил 43,8±1,3 пг/мл. Овариоэктомия к 21-му дню после операции приводила к снижению содержания эстрогенов до 17,7±1,5 пг/мл, т.е. на 60% по сравнению со значениями у ложнопериованных крыс. Удаление яичников у крыс вызывало также изменения гемореологических показателей: увеличение гематокрита на 7%, усиление агрегационной активности эритроцитов, о чем свидетельствовало снижение полупериода агрегации на 29% (табл. 1). Кроме того, наблюдалось достоверное уменьшение деформируемости эритроцитов при высоких скоростях сдвига (360...890 с<sup>-1</sup>) на 9...15% (табл. 2). Изменение реологических показателей приводило к статистически значимому повышению вязкости крови во всем диапазоне скоростей сдвига на 7...18% (рисунок). При этом индекс эффективности транспорта кислорода тканям при низких скоростях сдвига (5...50 с<sup>-1</sup>) достоверно снижался на 5...7% (табл. 3). Таким образом, прирост гематокрита у животных после овариоэктомии не обеспечивал увеличение доставки кислорода в ткани из-за выраженного повышения вязкости

**Таблица 1. Влияние курсового введения (14 дней внутривенно) экстракта маакки амурской (ЭМА, 200 мг/кг) на гемореологические показатели у крыс после овариоэктомии**

Группы животных	Вязкость плазмы, мПа·с	Фибриноген, г/л	Гематокрит, %	Полупериод агрегации эритроцитов, с
Ложнопериованные (n = 7)	1,4±0,1	2,5±0,4	43±1	21±2
Контроль (овариоэктомия) (n = 7)	1,4±0,1	3,2±0,3	46±1*	15±1*
Овариоэктомия + ЭМА (n = 8)	1,4±0,1	3,0±0,3	45±1	19±1**

Примечание: \* – p < 0,05 по сравнению со значениями у ложнопериованных крыс; \*\* – p < 0,05 по сравнению со значениями у крыс после овариоэктомии.

**Таблица 2. Влияние курсового введения (14 дней внутривенно) экстракта маакки амурской (ЭМА, 200 мг/кг) на индекс деформируемости эритроцитов (усл. ед.) при различных скоростях сдвига у крыс после овариоэктомии**

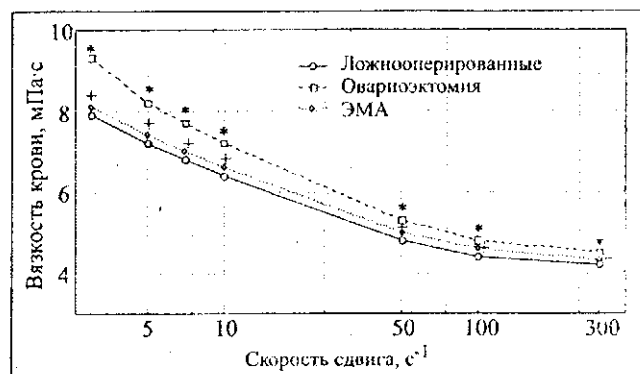
Группы животных	90 с <sup>-1</sup>	180 с <sup>-1</sup>	360 с <sup>-1</sup>	890 с <sup>-1</sup>
Ложнопериованные (n = 7)	0,161±0,009	0,201±0,009	0,262±0,013	0,310±0,011
Контроль (овариоэктомия) (n = 7)	0,158±0,010	0,188±0,009	0,222±0,007*	0,282±0,007*
Овариоэктомия + ЭМА (n = 8)	0,165±0,015	0,208±0,012	0,263±0,011†	0,316±0,009†

Примечание: см. табл. 1.

Таблица 3. Влияние курсового введения (14 дней внутрижелудочно) экстракта маакии амурской (ЭМА, 200 мг/кг) на индекс эффективности доставки кислорода тканям (усл. ед.) при различных скоростях сдвига у крыс после овариоэктомии

Группы животных	5 с <sup>-1</sup>	50 с <sup>-1</sup>	100 с <sup>-1</sup>	300 с <sup>-1</sup>
Ложнооперированные (n = 7)	6,03±0,10	9,08±0,14	9,72±0,19	10,29±0,19
Контроль (овариоэктомия) (n = 7)	5,59±0,09*	8,62±0,10*	9,42±0,09	10,06±0,09
Овариоэктомия + ЭМА (n = 8)	6,11±0,11 <sup>+</sup>	9,15±0,08 <sup>+</sup>	9,80±0,09 <sup>+</sup>	10,38±0,09 <sup>+</sup>

Примечание: см табл. 1



Вязкость цельной крови у ложнооперированных крыс, у крыс на 21-е сутки после овариоэктомии и у овариоэктомированных крыс, получавших экстракт маакии амурской (200 мг/кг внутрижелудочно 14 дней); \* -  $p < 0,05$  по сравнению со значениями у ложнооперированных крыс; + -  $p < 0,05$  по сравнению со значениями у крыс после овариоэктомии

крови, возникающего как вследствие гемоконцентрации, так и нарушения реологических характеристик эритроцитов. Следовательно, овариоэктомия у крыс вызывала гипоэстрогенное состояние, сопровождающееся нарушением гемореологического статуса с формированием синдрома повышенной вязкости крови и уменьшением эффективности доставки кислорода тканям.

У женщин в постменопаузальный период отмечено повышение агрегации эритроцитов, фибриногена, гематокрита [2]. Эти данные и полученные нами результаты позволяют предполагать, что, по крайней мере, одной из причин, лежащих в основе нарушения гемореологического статуса при естественной или хирургической менопаузе, является дефицит эстрогенов. В связи с этим, исследование влияния избирательных модуляторов эстрогеновых рецепторов – изофлавоноидов на гемореологические параметры при гипоэстрогемии является вполне обоснованным.

Курсовое введение ЭМА крысам после овариоэктомии не восстановило уровень эстрадиола в крови, величина которого была близка значению у овариоэктомированных животных и составляла  $20,4 \pm 1,7$  пг/мл. При этом ЭМА уменьшал вязкость

крови во всем диапазоне скоростей сдвига на 4...13% по сравнению со значениями у крыс, не получавших лечения (рисунок). Следовательно, уменьшение вязкости крови под действием ЭМА зависит не от его способности повысить уровень эстрогена в крови, а обусловлено, видимо, действием препарата, вероятно, способного изофлавоноидов модулировать активность эстрогеновых рецепторов [10] и антиоксидантно-защитивностью [4, 11]. При оценке вклада изменений отдельных гемореологических параметров в способность ЭМА уменьшать вязкость крови было установлено, что исследуемый экстракт вызывает значимое повышение деформируемости эритроцитов при высоких скоростях сдвига (360 с<sup>-1</sup>) на 12...18% (табл. 2), увеличение под действием агрегации эритроцитов на 27% (табл. 1), но при этом не оказывал влияния на макрореологические показатели – вязкость плазмы, гематокрит и уровень фибриногена в крови. Эффективность доставки кислорода в ткани под действием ЭМА достоверно увеличивалась на 3...9% при всех исследованных скоростях сдвига (табл. 3). Можно утверждать, что данный эффект обеспечен способностью ЭМА уменьшать вязкость крови, поскольку достоверных изменений гематокрита препарат не вызывал (табл. 1). Уменьшение вязкости крови и, как следствие, повышение эффективности транспорта кислорода под действием ЭМА является важным терапевтическим эффектом препарата, обеспечивающим возможность ослаблять системную или региональную ишемию в условиях гипоэстрогемии.

Таким образом, экстракт маакии амурской при его курсовом применении у крыс после овариоэктомии уменьшает вязкость крови и повышает эффективность транспорта кислорода в ткани за счет улучшения деформируемости и ослабления гиперагрегации эритроцитов. Полученные результаты позволяют рекомендовать проведение клинических испытаний экстракта маакии амурской в качестве корректора реологических

свойств крови с целью уменьшения риска возникновения сердечно-сосудистых осложнений при климактерическом синдроме.

Работа частично поддержана грантами РФФИ № 06-04-48068 и 07-04-12020.

## ВЫВОДЫ

1. Овариэктомия у крыс вызывает гипоэстрогенное состояние, сопровождающееся увеличением вязкости цельной крови за счет повышения гематокрита, гиперагрегации и уменьшения деформируемости эритроцитов, при этом происходит уменьшение эффективности транспорта кислорода в ткани.

2. Курсовое введение экстракта маакнии амурской крысам после овариэктомии не устраняет гипоэстрогемию, но уменьшает повышенную вязкость крови и повышает эффективность доставки кислорода тканям преимущественно за счет влияния на клеточные геморологические параметры.

## ЛИТЕРАТУРА

Белкин А. В., Сторожок С. А., Катюхин Л. Н. Эктацитометрический объективный метод оценки способности эритроцитов к деформации // Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова. 1991. Т. 77. № 1. С. 133 – 138.

2. Белобородова Э.И., Венгеровский А.И., Гайсаев Р.О. Новое гепатозащитное средство – максар // Сибирский журнал гастроэнтерологии и гепатологии. 1999. №8. С. 443 – 445.
3. Кириенко Я.Д. Практикум по эндокринологии. М.: 1969.
4. Левтов В. А., Резирер С. А., Шадрин И. Х. Реология крови. М.: 1982.
5. Патент № 2104027 (РФ).
6. Плотников М. Б., Колтунов А. А., Алиев О. И. Модификация микроколориметра МКМФ-1 для регистрации агрегации эритроцитов // Клин. лаб. диагностика. 1995. №3. С. 457 – 458.
7. Сметтик В. П., Туманович Л. Г. Неоперативная гинскология: Руководство для врачей. М. 2002.
8. Федорев С. А., Кулеш Н. И., Глебо Л. И. Препарат максар из дальневосточного растения маакния амурской // Химико-фармацевтический журнал. 2004. Т. 38. №11. С. 56 – 59.
9. Vaya A., Chorro P., Julia D., et al. Menopause, hormone replacement therapy and hemorheology // Clinical Hemorheology and Microcirculation. 2004. V. 30. No. 3 – 4. P. 277 – 281.
10. Rossouw J.J., Anderson G.L., Prentice R.L. Risk and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women principal results from the women's health initiative randomized controlled trial // J Am Med Assoc. 2002. V. 288. P. 321 – 333.
11. Mathieson R.A., Kitts W.D. Binding of phytoestrogens and oestradiol-17 $\beta$  by cytoplasmic receptors in the pituitary gland and hypothalamus of the ewe // Endocrinology. 1980. V. 85. P. 317 – 325.

Поступила 27 августа 2008 г.

## HEMO- RHEOLOGIC EFFECTS OF POLYPHENOLS FROM THE BEST PLANT MAACKIA AMURENSIS IN OVARIECTOMIZED RATS

© Authors, 2010

A.M. Plotnikova, Z.T. Stulgau, T. I. Plotnikova, O.I. Aliev, N.I. Kulesh, N.P. Mischenko, S.A. Fedoreyev

The effect of *Maackia amurensis* extract (EMA) on plasma estradiol and rheological properties of blood in female Wistar rats after ovariectomy was investigated. We measured the hematocrit, fibrinogen concentration, erythrocytes aggregation, erythrocytes deformability and whole blood viscosity after bilateral ovariectomy in rats. The content of polyphenols in EMA according to HPLC was 21.6% (isoflavonoids – 12.7% and stilbenes – 8.9%). The high maintenance of isoflavonoid-phytoestrogen in EMA was the basis for studying its effects in hypoestrogenic conditions. Ovariectomy in rats induced the decrease of estrogen level to 60% in comparison with a level in sham-operated animals. The whole blood viscosity in ovariectomized rats was increased by 7–18% as a result of evaluation of hematocrit by 7%, as well as impairment of erythrocyte deformability and increase of their aggregation. Efficacy of O<sub>2</sub>-transport to tissues was decreased by 7%.

Two weeks after surgery, the course treatment with extract of *Maackia amurensis* (oral administration 200 mg/kg/day during 14 days) in ovariectomized rats reduced the blood viscosity by 4–13% and increased the coefficient of O<sub>2</sub>-transport to tissues by 3–9%, but did not restore the estrogen level. The reason of EMA hemorheological effects was improvement of microrheological parameters: erythrocyte aggregation decrease and their deformability increase without the modification of macrorheological parameters (hematocrit and plasma viscosity).

The present findings suggest that EMA could be used as a therapeutic agent for menopausal vascular complication.