

УДК 612.22:633.32

ВЛИЯНИЕ ЛУГОВОГО КЛЕВЕРА (*TRIFOLIUM PRATENSE*) НА ОРГАНИЗМ ПРИ КИСЛОРОДНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

М.А. КАРАПЕТЯН, Н.Ю. АДАМЯН

e-mail: nona01011966@mail.ru

Ереванский государственный университет, биологический факультет, кафедра физиологии человека и животных

*В народной медицине при болезнях дыхательной системы (бронхиты, бронхиальная астма, простуда), когда организм чувствует нехватку кислорода, рекомендуется множество лекарственных трав, обладающих антигипоксическими свойствами. К числу таких трав относится клевер луговой (*Trifolium pratense* L.). Опыты показали, что при острой кислородной недостаточности соответствующей высоте 7–8 тыс. м, создаваемая в лабораторной барокамере, дыхание животных контрольной группы прекращается. А животные, в течение 10 дней кормленные цветками клевера, выдерживают острую кислородную недостаточность даже при 10-минутной суперпозиции на этой высоте. Это обусловлено повышением резистентности нейронов дыхательного центра продолговатого мозга к гипоксии: параллельно регистрируемая импульсная активность нейронов у экспериментальных животных проявляет высокую устойчивость к гипоксии, по сравнению с контрольной группой.*

Ключевые слова: гипоксия, клевер луговой, дыхание, импульсная активность нейрона

THE INFLUENCE OF THE RED CLOVER (*TRIFOLIUM PRATENSE*) ON THE BODY WITH THE OXYGEN DEFICIENCY

M. A. KARAPETYAN, N. YU. ADAMYAN

Yerevan state University, biological faculty, Department of human and animal physiology

*The folk medicine recommends medicinal herbs with antihypoxic properties for the respiratory system diseases such as bronchitis, bronchial asthma, cold. One of these herbs is *Trifolium pratense* L. (Fam. Fabaceae). The animals fed by trifolium flowers could stand hypoxia on the altitude 7–8 thousand m. The experiment results suggest that the increase of organism stability happens both on the system (external respiration remains longer) and all levels since simultaneously registered electrical activity of the respiratory centre neurons of medulla has shown high stability as compared to screening group.*

Key words: Hypoxia, *Trifolium pratense* L, respiration, neuronal activity.

doi:10.18522/2218–2268–2016–2–44–48

Введение

Среди различных неблагоприятных факторов окружающей среды, влияющих на организм, особое место занимает гипоксия. Она остается одной из актуальных медико-биологических проблем, постоянно находящаяся в центре внимания специалистов различного профиля, так как уже на ранних этапах онтогенеза, в зависимости от среды обитания и интенсивности жизнедеятельности, организм человека и животных сталкивается с кислородной недостаточностью.

В динамике гипоксического воздействия в соответствии с парциальным давлением кислорода в среде меняется и напряжение кислорода в крови, которое имеет место и при эндогенной гипоксии при различных заболеваниях. Поэтому гипоксия выступает как центральное звено и в патогенезе многих заболеваний [Акопян, 1987; Власова, Агаджанян, 1995; Горанчук и соавт., 1999; Законщиков, 1996; Сафонов, 2006]. Следовательно, активация адаптационных механизмов организма имеет важное значение для поддержания функциональной активности тканей и органов как в условиях эндогенной кислород-

ной недостаточности, так и при дефиците O_2 в окружающей среде.

Для повышения адаптационного потенциала организма используют антигипоксанты различной природы. Основное действие антигипоксантов направлено на поддержание функций митохондрий, обеспечивающих продукцию основного количества энергии в клетках и органах, страдающих при различных видах гипоксии [Смирнова, Ханов, 1998]. Вещества центрального действия осуществляют свой антигипоксический эффект преимущественно за счет активации тормозных влияний в центральной нервной системе, приводящих к снижению основного обмена и температуры тела [Темботова, 2005; Шаов, Пшикова, 2004].

Народная медицина рекомендует множество лекарственных трав, обладающих антигипоксическими свойствами. К числу таких трав относятся клевер луговой (*Trifolium pratense* L. сем. Бобовые Fabaceae). При болезнях дыхательной системы, а также при малокровии и плохом аппетите рекомендуется отвар или настойка цветков клевера. В цветках этого растения содержатся гликозиды, флавоны, изофлавоны, витамины группы В, которые, связывая свободные радикалы, препятствуют реакциям пероксидного окисления липидов. Поэтому чай с цветками клевера служит и хорошим профилактическим средством как для вышеуказанных так и для других заболеваний.

Однако в литературе очень мало сведений в плане коррекции гипоксии и в целом повышения адаптационного потенциала организма с помощью лекарственных растений с антигипоксическими свойствами. Такое же положение существует по вопросу о механизмах (физико-химических, биохимических, биофизических) действия лекарственных растений на организм человека.

Задача нашего исследования – выявить механизмы антигипоксического влияния данного лечебного растения на организм и научно обосновать его применение.

Материалы и методы

Исследования проведены в условиях острого опыта на белых крысах, весом 180–200 г, в двух группах. Первая группа была контрольная. Жи-

вотным второй (экспериментальной) группы в течение 10 дней давали смешанные с кормом толченые цветки растения (в день одна чайная ложка, по принятой в народной медицине при- близительной дозе), так как по литературным данным антигипоксическое влияние того или иного лекарственного растения выявляется через 10 дней его использования. Животных первой и второй группы наркотизированных хлоралозой и нембуталом (30 мг/кг и 10 мг/кг соответственно, внутривенно) фиксировали в стереотаксическом приборе. После трепанации и частичного удаления мозжечка микроэлектрод опускали в область задвижки (обех) продолговатого мозга, где сконцентрировано наибольшее число дыхательных нейронов (ДН). Экстраклеточное отведение электрической активности нейронов производили стеклянным микроэлектродом, заполненным 4М раствором NaCl (диаметр кончика – 1,5–2 мкм, сопротивление – 3–5 Мом). Одновременно угольным датчиком регистрировали внешнее дыхание.

Животное, фиксированное в стереотаксическом приборе, помещали в барокамеру, где путем откачивания воздуха создавалась среда кислородной недостаточности. Регистрацию изучаемых показателей производили до «подъема» животного, т.е. в условиях нормоксии ($pO_2 = 142$ мм рт.ст), на высоте 7,5–8,0 тыс. м ($pO_2 = 64–58$ мм. рт. ст.) и после «спуска» – в условиях нормального атмосферного давления. «Подъем» и «спуск» животного в барокамере производили со скоростью 15–20 м/с.

Регистрация показателей производилась с помощью программы, обеспечивающей в режиме “on-line” селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации. Отклонения средней величины вычислялись по Стьюденту. Эксперименты были выполнены в соответствии с Хельсинкской декларацией о гуманном обращении с животными. По окончании опытов для эвтаназии внутривенно вводили те же наркотические вещества с превышением дозы в 3 раза (90 и 30 мг/кг хлоралоза и нембутал соответственно).

Результаты и обсуждение

Для понимания тонких механизмов регуляции адаптационных процессов организма очень

важно изучение кислородного режима непосредственно в живых клетках в норме и при гипоксических воздействиях.

В нормальных условиях атмосферного давления была зарегистрирована электрическая активность 93 нейронов дыхательного центра (ДЦ): нейроны с фазной импульсацией соответствующей фазы вдоха (инспираторные нейроны) и выдоха (экспираторные нейроны), а также нейроны с непрерывной спонтанной импульсацией (ретикулярные нейроны). Так как реакции фазных и непрерывных нейронов на гипоксию носили одинаковый характер, в таблице представлены данные только фазных нейронов.

Наблюдение за поведением фоновой активности нейронов в динамике гипоксического воздействия показало, что у животных контрольной группы начиная с высоты 4–5 тыс.м часть нейронов (52 %) постепенно прекращает свою активность, а у остальных 48 % нейронов на высоте 7,5–8 тыс. м средняя частота импульсации

уменьшается (таблица). По ходу увеличения степени кислородной недостаточности постепенно уменьшается амплитуда и частота внешнего дыхания – от 56,6 до 44,8 дых. движений в минуту: наблюдается гаспинг, который на высоте 7,5–8,0 тыс.м вслед за прекращением импульсной активности нейронов приводит к остановке дыхания.

У животных экспериментальной группы на этой высоте, по сравнению с контрольной группой, продолжает генерировать электрическую активность большее количество нейронов (65 % от общего числа). На высоте 7,5–8,0 тыс. м у этих животных наблюдается выраженный облегчающий эффект клевера на электрическую активность дыхательных нейронов продолговатого мозга (таблица). Это выражается и на паттерне внешнего дыхания – частота уменьшается от 56,6 до 50,5 дых. движений в минуту. Даже при 10-минутной суперпозиции животных на этой высоте дыхание не прекращается.

Динамика изменений паттерна залповой активности нейронов бульбарного дыхательного центра при кормлением клевера в условиях гипоксического воздействия

Показатели	Показатели до кормления				Изменение показателей после кормления			
	Норма	5–5,0 тыс. м	5–8,0 тыс. м	Спуск	Норма	5–5,0 тыс. м	5–8,0 тыс. м	Спуск
Экспираторные нейроны								
Длительность залпа	56	54	57	55	58	59	61	59
Количество импульсов в залпе								
Средняя частота импульсации, имп/с	7*	2*	5*	9*	1*	5*	4*	6*
Инспираторные нейроны								
Длительность залпа	42	41	55	55	37	34	37	40
Количество импульсов в залпе								
Средняя частота импульсации, имп/с	3*	2*	2*	7*	9*	8*	2*	5*

* достоверные изменения – (p<0,05).

При тяжелых стадиях гипоксии (7,5–8,0 тыс. м, где PO₂ в среде составляет 64–58 мм. рт. ст.) в нейронах за кислородным голоданием наступает энергетическое голодание, которое выражается угнетением, а затем и полным исчезновением нейрональной активности. Резкое угнетение импульсной активности нейронов дыхательного центра на этой высоте по мнению ряда авторов [Власова, Агаджанян, 1995; Лукьянова, Чернобаева, Романова, 1995; Сороко, 2004; Тараканова, Сафонова, 1998] является следствием нарушения структурно-функциональной ор-

ганизации клеточных мембран, а также развития клеточного ацидоза и увеличения ГАМК в мозгу. В результате нарушается регуляторная функция нейронов, которое приводит к нарушению функций мозга – органа наиболее чувствительного к недостатку кислорода и связывающего организм с другими действующими факторами среды, а также управляющего адаптационным процессом на системном и клеточном уровнях [Чиженкова, 1986].

В последнее время сформировалось представление о роли кислородных свободных ра-

дикалов, избыточное образование которых лежит в основе многих патологических процессов в организме человека. Под действием неблагоприятных факторов, в том числе и гипоксии в клетках накапливаются токсические продукты свободнорадикального окисления липидов. Свободные радикалы участвуют в нарушении нормального метаболизма, связанного с постепенным накоплением необратимых повреждений клеточных структур, вызванных негативными действиями свободных радикалов [Манухина и соавт., 2002].

Одна из ведущих проблем новой области науки – свободнорадикальной биологии и медицины – поиск эффективных способов повышения адаптационного потенциала как организма в целом, так и его отдельных органов и систем. В связи с этим параллельно с другими методами развивался и метод повышения энергоадаптационного потенциала организма с помощью антиоксидантов синтетического и природного происхождения [Гамбашидзе, Батиашвили, 1980; Смирнова, Хазапов, 1998; Терехина, 1989; Шаов, Пшикова, 2004]. В этом плане особенно перспективными могут оказаться антиоксиданты клевера лугового, содержащего β -каротин, витамины Е и С и комплекс витаминов группы В.

Наибольшей биологической активностью обладает β -каротин, при распаде которого в организме образуются 2 молекулы витамина А, оказывающего значительное влияние на барьерную функцию клеточных мембран и активно участвующего в окислительно-восстановительных реакциях, протекающих в клетках организма [Душейко, 1989].

β -каротин в экстренном порядке связывает кислород в примембранном пространстве клеток. В условиях крайней степени гипоксии (высота 9–10 км) возбужденные и задыхающиеся клетки неожиданно нормализуются и продолжают функционировать, так как они начинают получать кислород от β -каротина – депо кислорода [Карнаухов, 1973].

Одним из ведущих механизмов в развитии гипоксии является нарушение биоэнергетических процессов. Установлено, что витамин Е обладает не только антиоксидантным действием, но и регулирует тканевой энергетический обмен.

Витамин Е – универсальный компонент клеточных мембран. Согласно антиоксидантной те-

ории, витамин Е, присоединяя кислород, тормозит процесс окисления липидов и противодействует токсическому влиянию самих перекисей. Снижение потребления кислорода у животных в тканях с авитаминозом Е сопровождается изменением степени сопряжения дыхания и окислительного фосфорилирования [Темботова, 2005].

Цветы и листья клевера богаты также витамином С. Известно, что аскорбиновая кислота обеспечивает более высокую выносливость животных к недостатку кислорода. Видимо, это связано с ее участием в окислительно-восстановительных реакциях организма. В условиях гипоксии введение животным аскорбиновой кислоты повышает способность тканей к использованию кислорода. О. В. Пшиковой (1999) было отмечено достоверное повышение напряжения кислорода нервной и мышечной тканей крыс после приема витамина С [Шаов, Пшикова, 2004].

Клевер луговой помогает при атеросклерозе, отеках сердечного и почечного происхождения [Терехина, 1989]. Это не случайно, так как предотвращение гипоксии на клеточном уровне снимает риск развития тканевой гипоксии, которая наблюдается при различных патологических состояниях организма.

Заключение

Представленные экспериментальные данные дают основания полагать, что повышение устойчивости организма к кислородной недостаточности под воздействием *Trifolium pratense* выражается на клеточном уровне – спонтанная электрическая активность нейронов бульбарного дыхательного центра проявляет высокую резистентность к гипоксии по сравнению с контрольной группой. Это отражается и на системном уровне – внешнее дыхание животного, в течение 10 дней кормленного цветками клевера, в условиях острой гипоксии, соответствующей высоте 7,5–8,0 тыс. м, сохраняется дольше, чем у животных контрольной группы.

Результаты наших опытов свидетельствуют, что применение клевера лугового как антигипоксического лекарственного растения не только эмпирически оправдано, но и экспериментально доказано.

Литература

- Акопян НС. Электрофизиологические исследования деятельности мозга при гипоксии. Ереван: «Ай-астан», 1987.
- Власова ИГ, Агаджанян НА. Адаптация к гипоксии на клеточно-тканевом уровне. Нур. Med. J., 1995; 3; 2: 6–10.
- Гамбашидзе НБ, Батиашвили ГА. О влиянии цитохрома с растительного происхождения на экспериментальную аритмию сердца, сократительную функцию и энергетический обмен миокарда. Кардиология, 1980;7:110–112.
- Горанчук ВВ, Шустов ЕБ, Андреева ЛИ. [и др.] Биохимические детерминанты и механизмы развития экстремальной гипоксической гипоксии. Физиол. человека, 1999; 25; 4: 118–129.
- Душейко АА. Витамин А. Обмен и функции. Киев: Наукова думка, 1989.
- Законщиков КФ. Адаптация. Гипоксия. Здоровье. М., 1996.
- Карнаухов ВН. Функции каротиноидов в клетках животных. М.: Наука, 1973; 64–87.
- Лукьянова ЛД, Чернобаева ГН, Романова ВЕ. Влияние периодической адаптации к гипоксии на процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях мозга крыс с различной устойчивостью к кислородной недостаточности. Бюл. экспер. биол. и мед., 1995; 120; 12: 572–575.
- Манухина ЕБ, Лямина НП, Долотовская ПВ [и др.] Роль оксида азота и окислительных свободных радикалов в патогенезе артериальной гипертензии. Кардиология. 2002;11: 73–84.
- Сафонов ВА. Человек в воздушном океане. М., 2006.
- Смирнова НБ, Хазанов ВА. Церебропротекторное действие экстракта листа бадана толстолистного. Гипоксия в медицине. Материалы 3 междунар. конф. М., 1998: 64.
- Сороко СИ. Перестройка интегративных механизмов регуляции физиологических функций организма человека в условиях экспериментальной и высокогорной гипоксии. Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. Под ред. Л.Д. Лукьяновой и Ушакова: М: Истоки, 2004: 185 .
- Тараканов ИА, Сафонов ВА. ГАМКергическая система и ее значение для регуляции дыхания. Физиол. человека. 1998; 24; 5: 116–128.
- Темботова ИИ. Действие биоантиоксидантов облепихи крушиновидной на физиологические показатели сердечно-сосудистой системы человека: дис. ... канд. мед. наук. Нальчик, 2005: 21.
- Терехина НА. Коррекция антиоксидантами нарушенной проницаемости мембран при офтальмогерпесе. Нарушение механизмов регуляции и их коррекция; тез. докл. ГУ Всесоюз. съезда патофизиологов. Кишинев, 1989; 2: 557.
- Чиженкова РА. Структурно-функциональная организация сенсомоторной коры. М.: Наука. 1986: 240.
- Шаов МТ, Пшикова ОВ. Адаптационные изменения сердечно-сосудистой системы человека под влиянием природных антиоксидантов. Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. 2004; 90; 8: 11–17.