



Влияние новых средств из сырья пантовых оленей на биосинтетические процессы в клетках скелетной мускулатуры крыс в условиях длительной физической нагрузки

А.Ю. Жариков, В.Г. Луницын, В.В. Лампатов, Ю.Г. Мотин,
О.С. Талалаева, Д.В. Елисеев, Г.В. Павляшик

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», Барнаул

Контактная информация: Жариков Александр Юрьевич, zharikov_a_y@mail.ru

В статье приведены результаты исследования влияния пяти средств, полученных из сырья пантовых оленей, на биосинтетические процессы в клетках мускулатуры крыс. Изучение проводилось по запатентованной методике, включающей гистологическое, гистохимическое и морфометрическое исследования. Наиболее существенные изменения в структуре и клеточной активности скелетной мускулатуры подопытных животных относительно аналогичных показателей контрольной группы зафиксированы при применении средств из половых органов самцов, сухожилий, хвостов, эмбрионов, пант. Полученные данные позволяют судить о способности новых средств из сырья пантовых оленей стимулировать биосинтетическую активность в клетках скелетной мускулатуры крыс, а также проявлять выраженную тонизирующую активность.

Ключевые слова: панты оленя, биосинтетические процессы, тонизирующая активность, ядрышковый организатор.

Введение

Тонизирующее действие средств из сырья пантовых оленей достаточно хорошо известно [2, 6]. Однако поиск новых, более активных и безопасных средств пантолечения продолжается.

В рамках долгосрочной целевой программы «Развитие комплексной переработки продуктов пантового оленеводства в Алтайском крае», реализуемой под эгидой Губернатора Алтайского края А.Б. Карлина, в ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт пантового оленеводства» были раз-

работаны 5 новых средств из различных органов и тканей маралов. Разработка проводилась на основе новых технологических приемов, позволяющих значительно повысить выход биологически активных веществ. Это дало основание предположить, что потенциальное влияние указанных средств на организм может иметь довольно обширный характер, включая воздействие на клеточные процессы.

В связи с этим мы решили попытаться установить наличие и характер влияния новых средств из сырья пантовых

оленей на биосинтетические процессы в клетке, что и явилось **целью** настоящего исследования.

Материалы и методы

Учитывая, что основной целью практического применения средств из сырья пантовых оленей является повышение физической активности и выносливости, эксперимент проводился в условиях длительной физической нагрузки [1]. По этой же причине мишенью для оценки клеточного действия стали миоциты скелетной мускулатуры.

Эксперименты проводились на 50-ти крысах популяции линий Wistar обоих полов (в равном соотношении) массой 220-250 г, которые в течение всего эксперимента находились в индивидуальных метаболических клетках на стандартном лабораторном пищевом рационе. Содержание и уход за животными соответствовали нормативам, приведенным в Руководствах [5, 7].

Животные были разделены на 6 групп: из них 5 – опытных (крысы получали новые средства из сырья пантовых оленей (ССПО)), и 1 – контрольная группа (эквивалентное количество физиологического раствора).

Использовались новые средства из сырья пантовых оленей, полученные из половых органов самцов (ССПО 1), сухожилий (ССПО 2), хвостов (ССПО 3), эмбрионов (ССПО 4), пант (ССПО 5). Указанные средства были синтезированы методом ферментативного гидролиза сырья при ультразвуковой обработке. Выделенный гидролизат подвергался концентрированию и сушке в вакуумной сушилке. В результате были получены порошкообразные субстанции изучаемых средств без вкуса и запаха.

Введение всех 5-ти ССПО осуществлялось ежедневно на протяжении 10-ти дней внутрижелудочно с помощью атравматичного зонда в дозе 25 мг/кг. Физическая нагрузка для крыс задавалась с помощью проведения теста ежедневного вынужденного плавания с грузом (10 г) до полного прекращения плавания (утомления) в бассейне с температурой воды 22-24°C.

По истечении 10-ти дней эксперимента у крыс под эфирным наркозом хирургическим путем извлекался фрагмент мышцы из задней левой конечности, после чего животные подвергались эвтаназии.

Морфологическая оценка биосинтетических процессов в клетках осуществлялась по следующей методике. Извлеченные фрагменты мышцы освобождались от соединительной и жировой тканей, после чего из их центральной части вырезались кусочки размером 0,5х0,3 см и помещались в 10% раствор забуференного формалина. Гистологический материал фиксировался 24 ч. Использовалась проводка с изопропанолом и заливка в парафин [4]. Срезы тканей толщиной 6-8 мкм изготавливались на ротационном микротоме. Гистологические препараты окрашивались гематоксилин-эозином и AgNORs на ядрышковые организаторы.

Оценка степени гипертрофии мышечных волокон осуществлялась путем измерения их поперечного сечения. Для этого препараты, окрашенные гематоксилин-эозином, рассматривались в светооптическом микроскопе ЛОМО Микмед-6 при увеличении х400. Изготавливались снимки гистологических препаратов с использованием цифровой камеры Canon PS A520. Препараты ана-

лизировались на фотографиях с помощью программного пакета AxioVision 3.4LE.

Определение биосинтетической активности ядер миосимпластов производилось путем подсчета среднего количества гранул серебра на одно ядро и определения процентного содержания ядер с одним, двумя, тремя и более гранулами на увеличении $\times 400$ светоптического микроскопа.

Полученные результаты обрабатывали статистическим методом вариационных рядов с использованием критерия Вилкоксона. Все расчеты велись по общепринятым формулам. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – ошибка среднего.

Результаты и их обсуждение

Комплексное гистологическое, гистохимическое и морфометрическое исследование, проведенное по завершению курса назначения ССПО, позволило обнаружить довольно примечательные изменения в структуре и клеточной

активности скелетной мускулатуры подопытных животных относительно аналогичных показателей в контрольной группе при введении изучаемых ССПО (табл.).

Наиболее значимые изменения были зафиксированы в группе ССПО 1. Средняя толщина мышечного волокна у крыс этой группы в 1,55 раза превышала показатель контрольной группы, что свидетельствует о выраженном приросте мышечной массы. Эти данные хорошо согласуются с результатами анализа биосинтетической активности в ядре клеток. После курса введения ССПО 1 количество ядер с двумя ядрышковыми организаторами увеличилось относительно контроля в 1,57 раза, а с тремя ядрышковыми организаторами – и вовсе в 9,5 раза.

Как известно, ядрышковый организатор – это участок хромосомы, кодирующий синтез иРНК, которая впоследствии определяет интенсивность синтеза белка на рибосомах [3]. Поэтому столь выраженный рост количества ядер с

Таблица
Результаты комплекса гистологического, гистохимического и морфометрического исследований

Группа	Толщина мышечного волокна (мкм)	Количество и процент ядер с ядрышковыми организаторами		
		с одним ядрышковым организатором	с двумя ядрышковыми организаторами	с тремя ядрышковыми организаторами
Контроль	15,7 $\pm$ 0,50	37 (61,7%)	21 (35,0%)	2 (3,3%)
ССПО 1	24,4 $\pm$ 0,49*	23 (30,7%)*	33 (44,0%)	19 (25,3%)
ССПО 2	20,7 $\pm$ 0,58*	31 (41,3%)*	32 (42,7%)	12 (16,0%)
ССПО 3	18,1 $\pm$ 0,32*	21 (28,0%)*	33 (44,0%)	21 (28,0%)
ССПО 4	17,5 $\pm$ 0,36*	17 (28,3%)*	25 (41,7%)	18 (30,0%)
ССПО 5	15,1 $\pm$ 0,35	31 (51,7%)	19 (31,7%)	10 (16,6%)

Примечание: * – достоверные изменения относительно контроля ($p < 0,05$).

большим числом ядрышковых организаторов свидетельствует о существенном росте биосинтетической активности в клетках на фоне применения ССПО 1.

Было установлено, что у крыс группы ССПО 2 также фиксировались характерные изменения клеточной активности, которые, однако, были выражены в меньшей степени. Так, средняя толщина мышечного волокна увеличилась относительно контроля в 1,32 раза, а количество ядер с двумя и тремя ядрышковыми организаторами – в 1,52 и 6,0 раза соответственно. Учитывая это, можно предположить, что ССПО 2 обладает менее выраженной активностью, для проявления которой необходим более длительный период применения, либо более высокая доза.

10-дневный курс применения ССПО 3 также охарактеризовался увеличением средней толщины мышечного волокна относительно контроля. Правда, оно было еще менее выражено, чем у ССПО 2, но оставалось статистически значимым в сравнении с контролем. С другой стороны, особое внимание обращает на себя явно выраженный рост количества ядер с двумя и тремя ядрышковыми организаторами – в 1,57 и 10,5 раза соответственно.

Изучение клеточного действия ССПО 4 показало, что средняя толщина мышечного волокна в этой группе превышала значения контрольной группы на 15,6%, что заметно уступало показателям ССПО 1-3, но являлось статистически значимым. В то же время, влияние ССПО 4 на биосинтетические процессы в клетке оказалось одним из самых выраженных среди тестируемых ССПО: количество ядер с двумя ядрышковыми организаторами увеличилось

относительно контроля в 1,19 раза, а с тремя ядрышковыми организаторами – в 9,0 раза. По совокупности фактов можно предположить, что клеточное действие ССПО 4 носит отсроченный характер и проявляется в более длительный период времени.

В отношении ССПО 5 было выявлено, что его влияние на биосинтетические процессы в мышечной ткани крыс сравнительно мало и проявляется только в пятикратном росте количества ядер с тремя ядрышковыми организаторами. Это позволяет судить о самом слабом клеточном действии ССПО 5 среди тестируемых средств.

Заключение

Суммируя вышесказанное, отметим, что по результатам эксперимента все 5 новых ССПО обладают способностью стимулировать биосинтетическую активность в клетках скелетной мускулатуры крыс, но с разной степенью интенсивности. Не исключено, что такое различие в силе эффекта было обусловлено особенностями композиций биологически активных веществ в каждом из средств. Изучение этих особенностей и идентификация биологически активных веществ нам представляется задачей следующего этапа исследования, здесь же можно предположить, что механизмы возникновения обнаруженных эффектов отличаются по скорости их реализации. Возможно, механизмы, обеспечивающие эффект разработанного средства из половых органов самцов, были достаточно мощными (не исключено, что причиной этого явились андрогены), в связи с чем обнаруженное действие отчетливо проявилось в период 10-дневного экс-

перимента. Остальные средства, имея иной состав биологически активных веществ, видимо, способны оказывать влияния в средне- или долгосрочном периоде применения.

Результаты проведенного исследования позволяют небезосновательно предполагать, что изученные ССПО могут обладать довольно выраженной тонизирующей активностью, изучению которой и будут посвящены дальнейшие исследования.

Список литературы

1. *Земцова Н.П., Зверев Я.Ф., Турецкова В.Ф.* Сравнительная общетонизирующая активность измельченных пантов марала // Фун-

даментальные исследования. - 2014. - № 6. - С. 100-103.

2. *Луницын В.Г.* Пантовое оленеводство и его научное обоснование // Ветеринарная газета. - 2002. - № 20 (237). - С. 7.
3. *Льюин Б.* Гены // Мир. - 1987. - С. 528.
4. *Пешиков М.В., Дыгало И.И.* Метод гистологической проводки тканей с использованием изопропанола и минерального масла // Архив патологии. - 2009. - № 3. - С.39-41.
5. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. - М.: Профиль-2С. 2010. 358 с.
6. *Юдин А.М.* Панты и антлеры: рога как лекарственное сырье. - Новосибирск: Наука, 1993. - 120 с.
7. Guide for the care and use of laboratory animals. - Washington, DC: The National Academies Press, 1996. doi:10.17226/5140.

Influence of new agents from raw materials of fawn's antlers on biosynthetic processes in rats skeletal muscles cells in conditions of long physical activity

A.Yu. Zharikov, V.G. Lunitsyn, V.V. Lampatov, Yu.G. Motin,
O.S. Talalaeva, D.V. Elisseyev, G.V. Pavlyashik

In the article test research results of influence of new agents from raw materials of fawn's antlers on biosynthetic processes in rats skeletal muscles cells in conditions of long physical activity are described. The trial was led patented technique, which includes histologic, histochemical and morphometric researches. The most changes in structure and skeletal muscles cytology of test animals relatively similar to the control group are recorded in the application of funds from the genitals of males, tendons, tails, embryos punt. The obtained data make assertions about the ability of new agents from raw materials of fawn's antlers to stimulate biosynthetic activity in rats skeletal muscles cells and to exhibit significant the tonic activity.

Key words: fawn's antlers, biosynthetic processes, significant tonic activity, nucleolar organizer.