

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ ЭКСТРАКТА ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ КЛЕТОК КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

© 2006 О.Ю. Кузнецова¹ Н.В. Расцветова²

Исследовано влияние экстракта хвои сосны обыкновенной на активность НАДН- и НАДФН-оксидаз лейкоцитов, супероксиддисмутазы эритроцитов и перекисную устойчивость эритроцитов крови жителей регионов различной степени экологического напряжения. Показаны положительные антиоксидантный и мембраностабилизирующий эффекты комплекса биологически активных веществ хвои *Pinus silvestris* L. на клетки крови человека.

Введение

Взаимоотношения человека и окружающей среды претерпели за последние десятилетия глубокие изменения. Антропогенное воздействие на природу достигло критического предела [1–3].

В ряде регионов со значительной концентрацией предприятий нефтехимического профиля складывается исключительно серьезная экологическая ситуация. Помимо экологического фактора, жители некоторых районов подвержены влиянию неблагоприятных климатических условий.

Обычно между живыми организмами и окружающей средой устанавливается равновесие, обусловленное адаптацией [4]. Однако механизмы защиты и приспособления обеспечивают гомеостаз при условии изменений окружающей среды в ограниченном объеме. Поэтому антропогенное напряжение и утомление можно рассматривать как своего рода промежуточное состояние между здоровьем и болезнью, возникшее в связи с изменением экологии [5, 6].

В сложившейся ситуации становится актуальным вопрос о поиске средств защиты систем организма от повреждающих факторов внешней среды. Одним из основных патогенетических механизмов повреждающего действия экотоксикантов признано усиление свободно-радикальных процессов в организме [7–12].

Целью данного исследования стало изучение функционального состояния НАДН- и НАДФН-оксидаз лейкоцитов, супероксиддисмутазы (СОД) эритроцитов и перекисной устойчивости эритроцитов при действии компонентов экстракта хвои сосны обыкновенной, обладающей мощной системой свободно-радикального окисления и антиоксидантной защиты.

¹Кузнецова Ольга Юрьевна, кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой Самарского государственного медицинского университета, 443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 89.

²Расцветова Наталья Владимировна, кафедра химии фармацевтического факультета Самарского государственного медицинского университета, 443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 89.

Хвоя сосны обыкновенной (*Pinus silvestris* L.) содержит до 1,3% эфирного масла, в состав которого входят до 40% пинена, лимонена, борнилацетата, борнеола, кадинена; кроме того, дубильные и горькие вещества (до 5%), флавоноиды (ацилированные гликозиды кверцетина и изорамнетина, катехин), кумарин, антоцианы, микроэлементы (марганец, железо, медь, бор, цинк, молибден) и большое количество аскорбиновой кислоты (до 0,3%) и других витаминов: К, Е, каротина [13–16].

1. Методика исследования

Объектом исследования были выбраны клетки крови лиц, проживающих в экологически относительно благополучном регионе (п. Красная Глинка Самарской области); в регионе антропогенного загрязнения (г. Новокуйбышевск Самарской области); в районе экологического неблагополучия и жестких климатических условиях Крайнего Севера (г. Когалым Ханты-Мансийского национального округа).

Всего обследовано 177 человек, из них по результатам полного клинико-лабораторного обследования 101 были признаны практически здоровыми. У 76 некурящих лиц с хроническим бронхитом (с обострениями не чаще 2 раз в год) исследование проводилось в стадию ремиссии.

Взятие крови и разделение клеток крови осуществлялось по методам, предложенным В.В. Меньшиковым и др. [17]. Кровь бралась утром натощак путем пункции локтевой вены. В качестве антикоагулянта использовался гепарин (500 ЕД/мл). После отстаивания крови (40–45 мин) плазма, содержащая лейкоциты, отбиралась и центрифугировалась (1500 об/мин, 10 мин). Надосадочная жидкость удалялась, а к осадку добавляли изотонический раствор натрия хлорида, смесь центрифугировали (500 об/мин, 10 мин). Полученный осадок лейкоцитов использовали для определений. Эритроцитарная масса, оставшаяся после отбора плазмы, трижды промывалась изотоническим раствором хлорида натрия, центрифугировалась (1500 об/мин, 10 мин) и использовалась для исследований.

Сбор образцов хвои проводился по методу [18]. Экстракт хвои получали добавлением к 1 части измельченной зеленой массы 5 частей бидистиллированной воды с последующей гомогенизацией и экспозицией продолжительностью 15 мин. Экстракт отделяли от осадка фильтрованием и изотонировали кристаллическим натрием хлоридом до конечной концентрации 0,16 мМ. Проводили инкубацию клеток крови с экстрактом хвои (10 мин, 37 °С), пробы охлаждались (+4 °С, 15 мин), центрифугировались (1500 об/мин, 10 мин).

Активность НАДН- и НАДФН-оксидаз лейкоцитов определялась по методу [19], основанному на восстановлении нитросинего тетразолия до нерастворимого формазана под влиянием оксидаз свободных нуклеотидов НАДН- и НАДФН-. Активность супероксиддисмутазы эритроцитов определялась методом, предложенным Е.Е. Дубининой и др. [20], в основе которого лежит реакция торможения восстановления нитросинего тетразолия. Определение перекисной устойчивости эритроцитов проводили по методу [21], а содержание белка — биуретовым методом [22].

Для характеристики сбалансированности про- и антиоксидантной систем нами было предложено рассчитывать соотношение активностей ферментов СОД/оксидазы, названное коэффициентом эффективности антиоксидантной защиты.

Экспериментальные данные были статистически обработаны. Следует отметить, что использование проведенных методов статистического оценивания было

правомочно лишь при нормальном распределении исследуемых генеральных совокупностей. Поэтому первоначально проверялась гипотеза о нормальном распределении генеральных совокупностей по критерию согласия Пирсона при уровне значимости 0,05. Гипотеза была принята для всех совокупностей. Далее проверялись гипотезы о равенстве генеральных дисперсий Dg и генеральных средних (математических ожиданий) Mg с использованием критериев Фишера-Снедекора (F) и Стьюдента (t), что позволило сделать выводы о наличии изменений исследуемых показателей под воздействием компонентов экстракта хвои. Также был проведен корреляционный анализ [23–24].

2. Результаты исследования и их обсуждение

Содержание настоящего исследования составило изучение на молекулярном уровне состояния здоровья популяций жителей двух резко отличающихся биогеохимических провинций: Среднего Поволжья (п.Красная Глинка и г.Новокуйбышевск Самарской области) и Крайнего Севера Западной Сибири (г.Когалым Ханты-Мансийского национального округа).

Условия проживания данных популяций имеют ряд кардинальных различий: по типу климата, уровню инсоляции, по типу сложившегося биогеоценоза (Новокуйбышевск и Красная Глинка расположены на границе лесостепной и степной зон, Когалым — в зоне тундры), минеральному составу воды и почвы.

Для выяснения биохимических особенностей сохранения здоровья и выявления метаболического фона, создающего условия для реализации патологических процессов в условиях экологического напряжения в лейкоцитах людей, нами исследовалось состояние НАДН- и НАДФН-оксидаз, являющихся центральным звеном генерации активных форм кислорода, играющих важнейшую роль в биотрансформации ксенобиотиков в организме, и СОД эритроцитов, одного из главных ферментов антиоксидантной системы, предохраняющей собственные структуры от повреждающего действия супероксидрадикалов. Для оценки равновесия про- и антиоксидантной систем определялась устойчивость мембран эритроцитов к перекисным соединениям. Учитывая, что с перекисной устойчивостью эритроцитов в большей степени коррелирует активность СОД, а не каталазы [25], нами изучалось именно супероксиддисмутазное звено антирадикальной защиты.

Приступая к оценке общего здоровья исследуемых популяций, мы сочли целесообразным прежде всего выяснить особенности метаболического статуса лиц, признанных практически здоровыми.

По сравнению со здоровыми экологически относительно благополучного района Красной Глилки статус "здоровья" в насыщенном промышленными предприятиями Новокуйбышевске того же региона Среднего Поволжья поддерживается на фоне значительно более низкой ($-70,7\%$; $p < 0,05$) активности НАДН- и НАДФН-оксидаз лейкоцитов при существенном повышении функциональной способности СОД эритроцитов ($+44,9\%$; $p < 0,05$) (табл. 1). Корреляционный анализ свидетельствует о наличии связей средней силы между процентом гемолиза эритроцитов и активностью ферментов про- и антиоксидантной систем (табл. 2). Устойчивость эритроцитарных мембран к перекисным соединениям при этом соответствует показателям, характерным для аналогичной группы Красной Глилки. Это, на наш взгляд, свидетельствует о достаточности метаболических компенсаторно-приспособительных реакций, развивающихся в организме у данной категории лиц в ответ

на химическую агрессию окружающей среды, и как развитие устойчивой адаптации — отсутствие клинически видимых патологических изменений.

Выраженная активация СОД эритроцитов становится понятной, если принять во внимание значительное снижение функциональной способности каталазы эритроцитов у здоровых жителей Новокуйбышевска [26]. Следовательно, при снижении эффективности одних звеньев многоуровневой системы антиоксидантной защиты компенсаторно возрастает роль другого звена.

Активация эритроцитарной фракции СОД может служить отражением усиления процессов свободно-радикального окисления. Основания для такого предположения весьма существенны.

Во-первых, для питьевой воды, потребляемой жителями Новокуйбышевска, характерно повышенное содержание меди, которая, являясь металлом с переменной валентностью, способна инициировать неферментативные пути образования активных форм кислорода по типу реакции Хабера–Вейса. Имеются также данные, что ионы меди могут выступать в роли активатора СОД [27].

Во-вторых, в питьевой воде данного региона повышена концентрация нитритов и нитратов, а в атмосфере — окиси азота, отличающихся, как известно, способностью к интенсивному образованию метгемоглобина, который является мощным источником активных форм кислорода. Это может быть причиной низкой функциональной способности каталазы эритроцитов, которая ингибируется высокими концентрациями H_2O_2 , а также снижения уровня общей оксидазной активности лейкоцитов, так как коферментом реакции восстановления метгемоглобина служит НАДН.

Кроме того, эритроциты испытывают на себе эффект потока супероксидрадикалов, генерируемых в системе микросомального окисления гепатоцитов, выполняющий важнейшую функцию биотрансформации ксенобиотиков. Жители Новокуйбышевска, представляющего регион высокой степени техногенного загрязнения, находятся под влиянием постоянного фона экотоксикантов, содержащихся в воздухе (диоксины, окись углерода, окись азота, полициклические углеводороды), в виде примесей — в воде, почве, продуктах питания.

У практически здоровых жителей Когалыма, испытывающих действие комплекса экотоксикантов, попадающих в биосферу, в процессе нефтегазодобычи в условиях сурового климата Крайнего Севера, в основе состояния "здоровья" лежат следующие метаболические особенности.

Так же, как и у здоровых региона экологического напряжения средней полосы, у данной категории лиц отмечается снижение, но в большей мере функциональной способности НАДН- и НАДФН-оксидаз лейкоцитов ($-89,9\%$; $p < 0,05$), сопровождающееся падением уровня активности СОД эритроцитов ($-85,5\%$; $p < 0,05$) (табл. 1) и значительной активацией каталазы эритроцитов [26].

Интересна динамика коэффициента эффективности антиоксидантной защиты у здоровых в зависимости от региона проживания: в Красной Глинке — 1,2; в Новокуйбышевске — 5,9; в Когалыме — 1,7.

Следствием несостоятельности супероксиддисмутазного звена антиоксидантной защиты при недостаточной компенсации ее каталазной реакцией является увеличение процента гемолизированных эритроцитов под действием перекисных соединений (табл. 1).

Усилению процессов свободнорадикального окисления в организме данной группы лиц способствует, на наш взгляд, несколько факторов.

Один из них обусловлен особенностями минерального состава воды Приполя-

Таблица 1

**Активность НАДН- и НАДФН-оксидаз лейкоцитов,
супероксиддисмутазы эритроцитов, процент перекисного гемолиза
эритроцитов крови обследованных лиц
до инкубации с экстрактом хвои**

Обследованные Группы	Активность НАДН- и НАДФН-оксидаз, УЕ	Активность СОД эритроцитов, ед./мг белка	Гемолиз эритроцитов, %
1 группа $n = 49$	$41,63 \pm 5,37$	$49,51 \pm 6,34$	$87,05 \pm 1,66$
2 группа $n = 24$	$31,31 \pm 10,27^*$	$36,80 \pm 4,53^*$	$83,02 \pm 3,78$
3 группа $n = 24$	$12,20 \pm 0,79^*$	$71,75 \pm 2,36^*$	$89,84 \pm 1,83$
4 группа $n = 32$	$4,68 \pm 0,84^*$	$27,13 \pm 4,72^*$	$93,22 \pm 2,39^*$
5 группа $n = 28$	$4,21 \pm 0,52^*$	$7,18 \pm 2,46^*$	$92,46 \pm 1,71^*$
6 группа $n = 20$	$6,71 \pm 1,95^*$	$15,79 \pm 2,22^*$	$94,96 \pm 2,13^*$

Примечание. 1 группа — п. Красная Глинка, практически здоровые жители; 2 группа — п. Красная Глинка, лица с хроническим бронхитом; 3 группа — г. Новокуйбышевск, практически здоровые жители; 4 группа — г. Новокуйбышевск, лица с хроническим бронхитом; 5 группа — г. Когалым, практически здоровые жители; 6 группа — г. Когалым, лица с хроническим бронхитом; * — результаты достоверно отличаются от данных, полученных в 1 группе ($p < 0,05$);

рья. Питьевая вода Когалыма отличается высоким содержанием железа. Ионы железа, как известно, являются мощными активаторами неферментативных механизмов генерации активных форм кислорода как по реакции Хабера–Вейса, так и по типу реакции Фентона. При недостаточном количестве или нарушении функции белков плазмы, связывающих металлы с переменной валентностью (трансферрина, лактоферрина, церулоплазмينا), данные реакции могут иметь место.

Во-вторых, главными загрязнителями биосферы данного региона служат нефть и нефтепродукты, богатые полициклическими углеводородами. При всем разнообразии химического строения данная группа соединений обладает выраженной липотропностью и соответственно способностью влиять на физико-химические свойства фосфолипидов биологических мембран.

Таким образом, состояние жителей Когалыма, испытывающих действие комплекса экстремальных факторов Крайнего Севера в сочетании с влиянием экотоксикантов техногенного происхождения, даже при отсутствии клинических признаков каких-либо заболеваний, нельзя охарактеризовать категорией "здоровья", а, скорее, признать переходным между здоровьем и болезнью, третьим состоянием, являющимся сформировавшимся преморбидным фоном для реализации патологических процессов.

Не менее важную задачу настоящего исследования составило выяснение особенностей метаболического фона лиц, страдающих хроническим бронхитом, являющимся одним из лидеров в общей структуре заболеваемости исследуемых популяций.

Полученные результаты показали, что в популяции Красной Глинки развитие хронического бронхита протекает на фоне угнетения НАДН- и НАДФН-оксидаз ($-24,8\%$; $p < 0,05$) и СОД ($-25,7\%$; $p < 0,05$) (табл. 1), что характеризуется

Таблица 2

Коэффициенты корреляции между активностью супероксиддисмутазы и процентом перекисного гемолиза эритроцитов крови жителей регионов различного экологического напряжения

		In vivo		In vivo	
		СОД эритроцитов	Гемолиз эритроцитов	СОД эритроцитов	Гемолиз эритроцитов
1 группа	Оксидазы	+0,064	-0,221	-0,446	+0,823
	СОД эритроцитов		+0,085		-0,329
2 группа	Оксидазы	+0,359	-0,184	-0,276	-0,106
	СОД эритроцитов		+0,188		-0,181
3 группа	Оксидазы	-0,196	-0,452	+0,419	+0,482
	СОД эритроцитов		-0,411		+0,763
4 группа	Оксидазы	+0,148	+0,295	+0,574	+0,810
	СОД эритроцитов		+0,208		+0,609
5 группа	Оксидазы	+0,136	+0,118	-0,286	-0,072
	СОД эритроцитов		-0,359		-0,448
6 группа	Оксидазы	+0,270	-0,285	+0,028	+0,427
	СОД эритроцитов		-0,201		+0,275

Примечание. 1 группа — п. Красная Глинка, практически здоровые жители; 2 группа — п. Красная Глинка, лица с хроническим бронхитом; 3 группа — г. Новокуйбышевск, практически здоровые жители; 4 группа — г. Новокуйбышевск, лица с хроническим бронхитом; 5 группа — г. Когалым, практически здоровые жители; 6 группа — г. Когалым, лица с хроническим бронхитом

формированием тенденции усиления корреляционных связей активностей оксидаз и СОД, проявлением зависимости процента гемолиза эритроцитов от активности СОД (табл. 2). Интересным является факт, что коэффициент эффективности антиоксидантной защиты по сравнению с группой здоровых при этом не изменился (1,2 и 1,2 соответственно), так же как и процент перекисного гемолиза эритроцитов. Следовательно, в регионе относительного экологического благополучия даже у больных хроническим бронхитом структурно-функциональные свойства мембран существенно не страдают.

Большой удельный вес болезней воспалительного характера в общей структуре заболеваемости данной популяции в целом, по-видимому, связан со снижением эффективности НАДН- и НАДФН- оксидазной системы, генерирующей O_2^- и обеспечивающей бактерицидный эффект.

Формирование хронического бронхита у представителей популяции Новокуйбышевска происходит также на фоне значительного снижения функциональной способности НАДН- и НАДФН-оксидаз ($-61,5\%$; $p < 0,05$) по сравнению со здоровыми этого же региона, а также эффективности СОД ($-62,2\%$; $p < 0,05$) (табл. 1).

Отмечено ослабление корреляции активности оксидаз с процентом гемолиза эритроцитов; процента гемолиза эритроцитов — с активностью СОД (табл. 2). Коэффициент эффективности антиоксидантной защиты у здоровых (5,9) и больных (5,8) при этом не меняется. Однако уровень эритроцитов, гемолизированных под действием перекисных соединений, нарастает.

Следовательно, в регионах техногенного загрязнения средней полосы реализация патогенетических факторов хронического бронхита происходит вследствие недостаточной эффективности системы антиоксидантной защиты и нарушения стабильности эритроцитарных мембран.

В популяции Когалыма хронический бронхит формируется на фоне метаболических изменений, противоположных таковым в популяции Новокуйбышевска: существенной активации оксидаз (+59,4%; $p < 0,05$) и СОД (+119,9%; $p < 0,05$) по сравнению со здоровыми жителями Когалыма (табл. 1). Несмотря на увеличение коэффициента эффективности антиоксидантной защиты у больных до 2,4 (у здоровых — 1,7), происходит увеличение перекисного гемолиза эритроцитов. Для данной группы характерно ослабление корреляционных связей активности СОД и процента гемолиза (табл. 2).

Учитывая единство составляющих биогеоценоза "воздух–вода–почва–растение–животное" нами было проведено исследование *in vitro* прямого действия суммы комплекса компонентов хвои сосны обыкновенной на клетки крови человека.

Приводим некоторые характеристики экстракта хвои сосны обыкновенной, использованного нами в опытах *in vitro* (табл. 3).

Таблица 3

**Характеристика экстракта хвои сосны обыкновенной
(*Pinus silvestris* L.)**

Экстракт хвои сосны обыкновенной	Активность НАДН- и НАДФН-окси- даз, УЕ	Активность СОД, ед/мг белка	рН	Водорастворимый белок, мг/мл
	29,63 ± 1,00	1,69 ± 0,02	4,91 ± 0,23	0,02 ± 0,01

Исследуя эффекты суммы компонентов экстракта хвои сосны на интактные клетки крови, мы выявили следующие закономерности.

У здоровых жителей популяции средней полосы (как Красной Глинки, так и Новокуйбышевска) после инкубации клеток крови с экстрактом хвои сосны на фоне угнетения активности оксидаз и СОД устойчивость эритроцитарных мембран к перекисным соединениям существенно не изменилась (табл. 4).

У лиц, проживающих в средней полосе в различных экологических условиях и страдающих хроническим бронхитом, изменения показателей про- и антиоксидантных систем после контакта с компонентами хвои *in vitro* имеют отчасти противоположно направленный характер: у больных экологически относительно благополучного района это проявляется в снижении функциональной активности оксидаз (–60,0%; $p < 0,05$); у больных района антропогенного загрязнения, наоборот, в значительном повышении уровня оксидазной активности (+108,9%; $p < 0,05$). При этом изменения в прооксидантной системе в обеих группах сочетаются с повышением эффективности ферментативной защиты от супероксидадикалов (+23,5%;

$p < 0,05$ и $+24,7\%$; $p > 0,05$ соответственно) и снижением процента перекисного гемолиза эритроцитов (табл. 4).

Наиболее существенные метаболические сдвиги, носящие характер "дыхательного взрыва", развиваются под влиянием экстракта хвои в клетках крови всех жителей Крайнего Севера. Установлена чрезвычайно бурная активация оксидазной системы ($+1059,2\%$; $p < 0,05$ в группе здоровых и $+585,3\%$; $p < 0,05$ в группе больных) при не столь резко выраженной активации СОД ($+213,9\%$; $p < 0,05$ у здоровых и $+87,8\%$; $p < 0,05$ у больных), что сопровождается снижением количества гемолизированных эритроцитов (табл. 4). Корреляционный анализ показывает, что у здоровых лиц во всех регионах и у больных из Новокуйбышевска после контакта с экстрактом хвои корреляционные связи между оксидазами и СОД усиливаются. Увеличивается также и зависимость процента гемолиза эритроцитов от интенсивности деятельности прооксидантной системы у здоровых жителей Красноглинского района, у больных жителей Когалыма и у всей популяции Новокуйбышевска, а также наблюдается формирование большей зависимости процента гемолиза эритроцитов от функционирования СОД у здоровых жителей Красной Глинки и у всего контингента Новокуйбышевска и Когалыма (табл. 2).

Таблица 4

Активность НАДН- и НАДФН-оксидаз лейкоцитов, супероксиддисмутазы эритроцитов, процент перекисного гемолиза эритроцитов крови обследованных лиц после инкубации с экстрактом хвои

Обследованные группы	Активность НАДН- и НАДФН-оксидаз, УЕ	Активность СОД эритроцитов, ед/мг белка	Гемолиз эритроцитов, %
1 группа $n = 49$	$25,46 \pm 5,13^{**}$	$22,30 \pm 5,79^{**}$	$89,64 \pm 1,94$
2 группа $n = 24$	$12,51 \pm 1,73^{* **}$	$45,48 \pm 3,37^{* **}$	$80,54 \pm 7,62^{*}$
3 группа $n = 24$	$4,85 \pm 2,24^{* **}$	$35,96 \pm 2,43^{* **}$	$92,84 \pm 1,82$
4 группа $n = 32$	$9,79 \pm 2,01^{* **}$	$33,82 \pm 2,25^{*}$	$88,94 \pm 7,54^{**}$
5 группа $n = 28$	$48,77 \pm 4,12^{* **}$	$22,54 \pm 0,10^{**}$	$86,16 \pm 2,65^{**}$
6 группа $n = 20$	$45,95 \pm 6,83^{* **}$	$29,65 \pm 3,13^{* **}$	$83,95 \pm 6,83^{* **}$

Примечание. 1 группа — п. Красная Глинка, практически здоровые жители; 2 группа — п. Красная Глинка, лица с хроническим бронхитом; 3 группа — г. Новокуйбышевск, практически здоровые жители; 4 группа — г. Новокуйбышевск, лица с хроническим бронхитом; 5 группа — г. Когалым, практически здоровые жители; 6 группа — г. Когалым, лица с хроническим бронхитом; * — результаты достоверно отличаются от данных, полученных в 1 группе ($p < 0,05$); ** — результаты достоверно отличаются от данного показателя группы in vivo ($p < 0,05$).

Таким образом, при всем многообразии количественного выражения изменений деятельности ферментов про- и антиоксидантной систем, а также их направленно-

сти после прямого контакта с суммой компонентов хвой налицо факт значимого повышения перекисной устойчивости мембран эритроцитов.

Объяснения эффектов биологически активных веществ экстракта хвой сосны не могут быть однозначными. Одной из особенностей метаболизма сосны является наличие в хвое чрезвычайно мощной системы генерации активных форм кислорода, обеспечивающих, в частности, бактерицидность летучих соединений хвой и не менее эффективную систему защиты собственных структур от повреждающего действия супероксидрадикалов [28]. Помимо ферментного антиоксидантного звена в хвое в очень большом количестве содержатся неферментные антиоксиданты: аскорбиновая кислота, каротины, витамины К и Е, флавоноиды. Способностью гасить свободнорадикальные процессы обладают также фенольные кислоты и их гликозиды, обнаруженные в хвое. Как указывает [14], фенольные соединения связывают ионы металлов в устойчивые комплексы, тем самым лишая их каталитического действия, а также служат акцепторами образующихся при аутооксидации свободных радикалов.

Явно меньший подъем активности СОД после инкубации эритроцитов с хвойным экстрактом по сравнению с активацией оксидаз лейкоцитов при сохранении устойчивости мембран эритроцитов или даже повышении толерантности их к перекисным соединениям может быть связан, на наш взгляд, прежде всего с однозначно положительным эффектом мощного комплекса низкомолекулярных антиоксидантов хвой, исключающих необходимость максимального ответа ферментативного звена.

Обобщая вышесказанное, суммарный эффект составляющих экстракта хвой сосны обыкновенной на процессы свободнорадикального окисления в мембранах эритроцитов следует признать положительным.

Серия опытов *in vitro* позволила, таким образом, выяснить структуру молекулярного ответа клеток крови жителей различных климато-экологических регионов на действие компонентов экстракта хвой сосны обыкновенной.

Выводы

Сравнительный анализ результатов, полученных в опытах по прямому воздействию суммы компонентов экстракта хвой сосны обыкновенной на клетки крови человека, позволил выявить следующие закономерности:

- 1) Контакт с экстрактом хвой вызвал однонаправленные изменения в крови здоровых жителей популяции средней полосы России, выразившиеся в значительном угнетении функций НАДН- и НАДФН-оксидаз и супероксиддисмутазы, тенденции к снижению перекисной устойчивости мембран эритроцитов. У жителей Новокуйбышевска как представителей региона антропогенного загрязнения вышеуказанные изменения протекали на фоне значительно более низкого уровня активности ферментов.
- 2) У лиц, проживающих в относительно экологически благополучном регионе, но страдающих хроническими заболеваниями, взаимодействие с комплексом компонентов хвой привело к ингибированию оксидаз и активации супероксиддисмутазы при существенном повышении устойчивости мембран эритроцитов к перекисному гемолизу.
- 3) Наиболее выраженные метаболические сдвиги развиваются под влиянием экстракта хвой в крови всех жителей Когалыма и у больных хроническими

заболеваниями, проживающих в Новокуйбышевске. Установлено резкое повышение активности ферментов как системы генерации активных форм кислорода, так и антиоксидантной защиты, наиболее бурно протекающее у лиц, представляющих популяцию северного региона. Вышеуказанные изменения сопровождаются значимым повышением перекисной устойчивости эритроцитарных мембран.

- 4) Наблюдаемые изменения обусловлены, вероятно, положительным эффектом как мощного комплекса низкомолекулярных антиоксидантов хвои, так и ферментного звена ее антирадикальной защиты.

Литература

- [1] Агаджанян, Н.А. Экология человека и концепция выживания / Н.А. Агаджанян, А.И. Волоксин, Е.Ф. Евстафьева. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2001. – 239 с.
- [2] Бусыгин, А.Г. Десмозеология или теория образования для устойчивого развития / А.Г. Бусыгин. – Ульяновск: Симбир. Книга, 2003. – 199 с.
- [3] Дорошин, М.И. Вымирание: Системный отбор / М.И. Дорошин. – Сергиев Посад: ДИМИС, 1995. – 72 с.
- [4] Алексеев, В.П. Очерки экологии человека / В.П. Алексеев. – М., 1993. – 192 с.
- [5] Брехман, И.И. Всенародное движение и здоровый мир / И.И. Брехман // III Национальный конгресс по профилактической медицине и валеологии.: Тез. докл. Россия, С.-Петербург, 28–31 мая, 1996. – СПб., 1996. – С. 1–5.
- [6] Гильмиярова, Ф.Н. Элементы теоретической и клинической биохимии / Ф.Н. Гильмиярова // Семейная медицина / под ред. А.Ф. Краснова. – Самара: Изд-во Дома печати, 1994. – Т. 1. – С. 177–194.
- [7] Арутюнян, А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина. – СПб., 2000. – 103 с.
- [8] Владимиров, Ю.А. Роль нарушений свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов / Ю.А. Владимиров // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1989. – №4. – С. 7–19.
- [9] Зенков, Н.К. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньшикова. – М.: МАИК "Наука / Интерпериодика", 2001. – 343 с.
- [10] Зиятдинова, Г.К. Оценка интегральной антиоксидантной емкости плазмы крови по ее реакции с супероксидным анион-радикалом / Г.К. Зиятдинова, Г.К. Будников, В.И. Погорельцев // Клинич. лабор. диагностика. – 2005. – №6. – С. 12.
- [11] Ланкин, В.З. Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Ю.Н. Беленков // Кардиология, 2004. – Т. 44. – №2. – С. 72–81.
- [12] Свободнорадикальное окисление и старение / В.Х. Хавинсон [и др.]. – СПб., 2003. – 327 с.
- [13] Запрометов, М.Н. Фенольные соединения / М.Н. Запрометов. – М.: Наука, 1993. – 272 с.
- [14] Кретович, В.Л. Биохимия растений / В.Л. Кретович. – М.: Высшая школа, 1986. – 503 с.

- [15] Минаева, В.Г. Лекарственные растения Сибири / В.Г.Минаева. – Новосибирск: Наука. Сибир. отд-е, 1991. – 431 с.
- [16] Плотников, М.Б. Лекарственные препараты на основе диквертина / М.Б.Плотников, Н.А.Тюкавкина, Т.М.Плотникова. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2005. 228 с.
- [17] Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В.В.Меньшиков [и др.]. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
- [18] Перелыгин, В.М. Гигиена почвы и санитарная очистка населенных мест / В.М.Перелыгин, В.В.Разнощик. – М.: Медицина, 1997. – 192 с.
- [19] Гордиенко, С.М. Сравнительная оценка результатов теста восстановления нитросинего тетразолия при микроскопическом и спектрофотометрическом вариантах метода с различными солями тетразолия / С.М.Гордиенко // Лабораторное дело. – 1983. – №2. – С. 21–24.
- [20] Дубинина, Е.Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е.Е.Дубинина, Л.А.Сальникова, Л.Ф.Ефимова // Лаб. дело. – 1983. – №10. – С. 30–33.
- [21] Покровский, А.А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов / А.А.Покровский, А.А.Аббаров // Вопр. питания. – 1964. – №6. – С. 44–49.
- [22] Кочетов, Г.А. Практическое руководство по энзимологии / Г.А.Кочетов. – М.: Высшая школа, 1980. – С. 222–223.
- [23] Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С.Гланц. – М.: Практика, 1999. – 460 с.
- [24] Корнит–Боуден, Э. Основы математики для биохимиков / Э.Корнит–Боуден; пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – 143 с.
- [25] Бондарев, Д.П. Состояние антиокислительной защитной системы эритроцитов в условиях перегревания организма / Д.П.Бондарев, Н.Б.Козлов, Н.М.Стунжас // Вопр. мед. химии. – 1985. – №6. – С. 27–30.
- [26] Блок, М.Л. Состояние систем защиты организма в условиях экологического напряжения: автореф. дис. ...канд. мед. наук / М.Л.Блок. – Уфа, 1995. – 26 с.
- [27] Bilineki, T. Stimulation of SOD activity by manganese and copper salts in vivo / T. Bilineki, A. Liczmanski // J. Cell. Biochem. – 1988. – Suppl. 12A. – P. 43.
- [28] Генетика изоферментов / Л.И.Корочкин [и др.]. – М.: Наука, 1977. – 275 с.

Поступила в редакцию 26/VIII/2006;
в окончательном варианте — 26/VIII/2006.

AN EFFECT OF PINUS SILVESTRIS L. NEEDLES EXTRACT COMPONENTS ON HUMAN BLOOD CELLS

© 2006 O.Yu. Kyznetsova,³ N.V. Rastsvetova⁴

In the paper the effect of components of *Pinus Silvestris* L. needles extract on NADH- and NADPH-oxidase, superoxide dismutase enzyme activity and on peroxide resistance of erythrocytes is analyzed. All the patients live in regions both the ecological exertion and the inclement climatic conditions. The favorable effects of bioactive substance of *Pinus Silvestris* L. needles extract to human blood cells are discussed.

Paper received 26/*VIII*/2006.

Paper accepted 26/*VIII*/2006.

³Kyznetsova Olga Yurievna, Dept. of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostic, Samara State Medical University, Samara, 443099, Russia.

⁴Rastsvetova Natalya Vladimirovna, Dept. of Chemistry of Pharmaceutical Faculty, Samara State Medical University, Samara, 443099, Russia.