



УДК 57.084.1

ВЛИЯНИЕ ФУРОСТАНОЛОВЫХ СТЕРОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ ИЗ СЕМЯН *CAPSICUM ANNUUM* L. НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ БЕЛЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

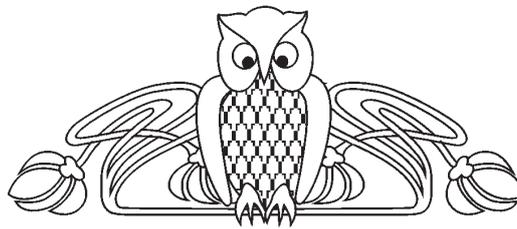
М. А. Григорович, Б. И. Кудрин, А. Н. Евдокимов,
С. Ю. Максимовских, О. М. Плотникова¹

Региональный центр экологического контроля и мониторинга
объекта по уничтожению химического оружия по Курганской области

E-mail: kurgan-rc@yandex.ru

¹Курганский государственный университет

E-mail: plotnikom@yandex.ru



В хроническом эксперименте на белых лабораторных мышах изучена токсичность и биологическая активность фураностаноловых стероидных гликозидов на примере капсикозида. Показано, что хроническое воздействие капсикозида на организм млекопитающих в дозе 50 мг/кг оказывает разнонаправленное воздействие на биохимические и физиологические процессы. Выявлены анаболический эффект, влияние на картину крови, изменение содержания субстратов и активность ферментов. Показано, что характер этого воздействия связан с полом животного. Основываясь на химической структуре капсикозида, можно предположить возможную связь биологического эффекта фураностаноловых стероидных гликозидов в организме млекопитающих с их участием в стимуляции синтеза стероидных гормонов.

Ключевые слова: фураностаноловые стероидные гликозиды, капсикозид, анаболический эффект, токсичность.

Influence of Furostanolic Steroidal Glycosides from *Capsicum Annuum* L. Seeds on Indicators of White Laboratory Mice in Chronic Experiment

М. А. Grigorovich, B. I. Kudrin, A. N. Evdokimov,
S. Yu. Maksimovskih, O. M. Plotnikova

In chronic experiment on white laboratory mice toxicity and biological activity of furostanolic steroidal glycosides (on an example capsicoside) where studied. It was shown that chronic influence of capsicoside in a dose of 50 mg/kg of body weight makes multidirectional impact on biochemical and physiological processes on an organism of mammals. The anabolic effect, influence on a blood picture, change of the maintenance of substrates and activity of enzymes are revealed. It is shown that nature of this influence is connected with a sex of an animal. The chemical structure of capsicoside allows to assume possible communication of biological effect of furostanolic steroidal glycosides in an organism of mammals with their participation in stimulation of synthesis of steroidal hormones.

Key words: furostanolic steroidal glycosides, capsicoside, anabolic effect, toxicity.

Стероидные гликозиды являются высокоактивными соединениями, благодаря сочетанию в одной молекуле двух частей – стероидной и углеводной. Из известных групп стероидных

гликозидов – спиростаноловых и фураностаноловых, последние являются биологически более активными. Фураностаноловые стероидные гликозиды (ФСГ) легко растворимы в воде и других полярных растворителях [1]. Было доказано, что 60% стероидных гликозидов в пищеварительном тракте животных подвергается гидролизу с образованием свободных сапогенинов, которые, всасываясь, могут быть предшественниками многих биологически активных веществ, имеющих стероидную структуру – стероидных гормонов, желчных кислот, витаминов группы D [2]. ФСГ из культуры клеток *Dioscorea deltoidea* Wall (диоскорея дельтовидная) при действии на разные субпопуляции лимфоцитов показали высокую иммуномодулирующую активность. На культуре изолированных лейкоцитов было показано, что действие ФСГ зависит от концентрации, вызывая либо стимуляцию, либо супрессию пролиферативного ответа лимфоцитов на митогенный стимул фитогемагглютининов [3].

У ФСГ обнаружена способность стимулировать синтез белков и активность некоторых ферментов (сукцинатлактатдегидрогеназы и цитохромоксидазы), связанных с обменом энергии. Наибольшее анаболическое действие ФСГ, сопровождаемое значительным приростом массы тела животных, проявилось при дозах от 5 до 10 мг/кг [4]. Исследование влияния ФСГ на синтез биополимеров (белка и нуклеиновых кислот) показало, что при дозе гликозида 30 мг/кг соотношение биополимеров в ткани сердечной мышцы существенно возрастало: РНК/белок – в 4 раза, РНК/ДНК – с 0,22 до 1,44. Содержание оксипролина в сердечной мышце под влиянием ФСГ также увеличивалось [2]. Приведенные факты указывают на то, что в сердечной мышце происходил активный синтез белка.



По мере того как ФСГ находят все более широкое применение в сельском хозяйстве [5], реальной становится возможность попадания этих веществ с растительными и животными продуктами питания в организм человека. Сведений о характере воздействия стероидных гликозидов на обмен веществ в организме млекопитающих недостаточно [6]. Информация о токсикологической безопасности этих соединений для млекопитающих в доступной литературе отсутствует.

Целью исследования явилось изучение хронического влияния фураностаноловых стероидных гликозидов на примере капсикозида из семян перца сладкого *Capsicum annuum* L. на морфологические, гематологические и биохимические показатели лабораторных мышей.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 64 белых лабораторных мышах линии СВА стандартизованных по массе, возрасту и условиям содержания. Все животные соответствовали категории клинически здоровых и имели массу 22–25 г. Животные были разделены на четыре группы. Две группы самцов и самок по 12 особей в каждой служили контролем; им еженедельно интрагастрально вводили по 1 мл физиологического раствора. Мышам опытных групп (самцы и самки по 20 особей в группе) еженедельно интрагастрально вводили по 50 мг/кг капсикозида в 1 мл раствора. Изучаемый капсикозид был получен из семян перца сладкого *Capsicum annuum* L. в лаборатории натуральных регуляторов Института генетики и физиологии растений АН Молдовы.

Эксперимент длился 98 суток (14 недель). После декапитации животных отбирали кровь для биохимических и гематологических исследований, проводили макроскопическое исследование внутренних органов. Определяли абсолютную и относительную массу сердца, печени, желудка и селезенки; абсолютное число эритроцитов и лейкоцитов; лейкоцитарную формулу; активность ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), холинэстеразы (ХЭ); содержание общего белка, мочевины, холестерина. Все гематологические исследования проводили общепринятыми методами [7]. Биохимические анализы выполняли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Stat Fax 3300» (США) по аттестованным в лаборатории методикам с использованием аналитических наборов фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск). Цифровой материал обрабатывали методами вариационной и непараметрической статистики [8, 9].

Результаты и их обсуждение

Увеличение общей массы тела в эксперименте у самцов сопровождалось увеличением большинства абсолютных и относительных массовых показателей внутренних органов, за исключением селезенки. В экспериментальной группе самок прирост общей массы тела, наоборот, сопровождался снижением большинства абсолютных и относительных показателей массы исследованных нами органов, за исключением массовых показателей печени. Изменения массы тела и внутренних органов белых лабораторных мышей после введения раствора капсикозида представлены в табл. 1.

Таблица 1

Масса тела и внутренних органов белых лабораторных мышей после введения раствора капсикозида из семян перца сладкого *Capsicum annuum* L. в дозе 50 мг/кг

Масса	Опытная группа		Контрольная группа	
	самцы	самки	самцы	самки
Мышь, г	39,8±0,42*	34,97±0,61*	36,14±0,42	30,79±0,83
Желудок, г	0,3±0,011*	0,274±0,008	0,253±0,014	0,294±0,021
Желудок, %	0,755±0,024	0,785±0,026*	0,701±0,038	0,951±0,064
Селезенка, г	0,205±0,007	0,149±0,004	0,194±0,02	0,149±0,008
Селезенка, %	0,515±0,014	0,431±0,014*	0,541±0,057	0,479±0,018
Сердце, г	0,316±0,019*	0,312±0,025	0,168±0,005	0,320±0,079
Сердце, %	0,789±0,040*	0,896±0,076	0,469±0,012	1,008±0,229
Печень, г	2,444±0,079*	2,272±0,064*	1,791±0,079	1,861±0,183
Печень, %	6,130±0,085*	6,511±0,188	4,988±0,22	5,952±0,501

Примечание. Первая цифра – среднее арифметическое значение (M); вторая цифра – ошибка среднего ($\pm m$); *звездочками отмечены достоверные отличия от контроля по t -критерию Стьюдента ($p < 0,05$).



Согласно гематологическим показателям опытных и контрольных животных (табл. 2) у мышей-самцов не отмечалось достоверного изменения общего количества эритроцитов и лейкоцитов. Тем не менее, исследование морфологии форменных элементов периферической крови показало достоверное увеличение относительного содержания нейтрофилов, прежде всего сегментоядерных, но при этом абсолютное их количество в крови мышей-

самцов достоверно не изменилось. Увеличение процента сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов в лейкоцитарной формуле сопровождалось достоверным снижением относительного содержания лимфоцитов. Абсолютное число лимфоцитов в периферической крови достоверно снижалось, что указывало на угнетение у самцов лимфоцитарного роста под влиянием вводимого в хроническом эксперименте капсикозида.

Таблица 2

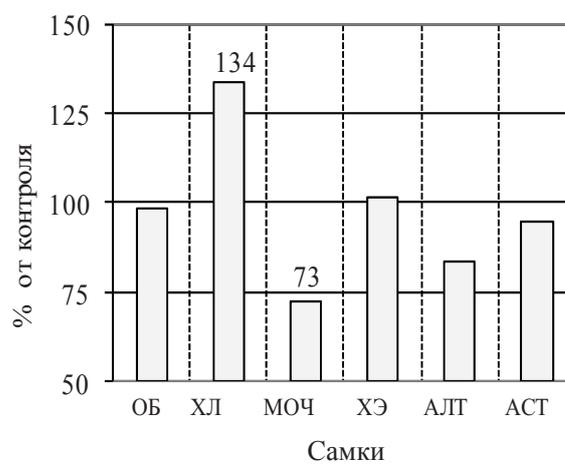
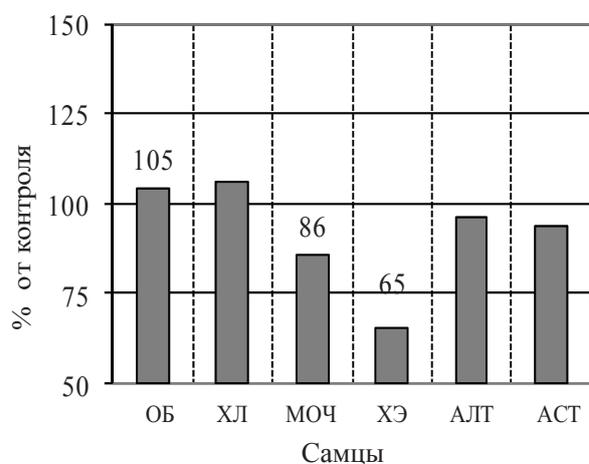
Влияние капсикозида на гематологические показатели белых лабораторных мышей

Исследуемый показатель	Опытная группа		Контрольная группа	
	самцы	самки	самцы	самки
Эритроциты, млн/мкл	7,77±0,30	8,95±0,28	8,86±0,62	9,55±0,36
Лейкоциты, тыс/мкл	5,69±0,43	8,09±0,36*	6,18±0,56	4,63±0,54
Нейтрофилы, %	29,1±3,5*	14,8±1,4	18,9±2,29	14,6±2,1
палочкоядерные	2,2±0,5	1,5±0,3	2,4±0,93	1,1±0,3
сегментоядерные	26,9±3,2*	13,3±1,4	16,5±2,08	13,5±2,1
Лимфоциты, %	68,3±3,4*	82,3±1,4	79,4±2,42	82,7±2,3
Лимфоциты, тыс/кл	3,83±0,28*	6,67±0,34*	4,85±0,39	3,88±0,5
Нейтрофилы, тыс/мкл	1,72±0,27	1,18±0,1*	1,21±0,23	0,62±0,08

У мышей-самок в периферической крови было отмечено существенное увеличение общего количества лейкоцитов, что сопровождалось достоверным повышением абсолютного числа как нейтрофилов, так и лимфоцитов. При этом лейкоцитарная формула у подопытных животных не отличалась от контроля. Приведенные данные свидетельствовали об отсутствии подавления капсикозидом лимфоцитарного

роста в хроническом эксперименте у особей женского пола.

Изменения биохимических показателей плазмы крови свидетельствуют о том, что хроническое введение мышам раствора капсикозида по-разному влияло на содержание в плазме крови общего белка, холестерина, мочевины и на изменение активности холинэстеразы у особей разного пола (рисунок).



Изменение активности АЛТ, АСТ, ХЭ и содержания общего белка (ОБ), мочевины (МОЧ), холестерина (ХЛ) в плазме крови самцов и самок через 98 суток после введения капсикозида (цифрами указаны достоверные отличия по критерию Вилкоксона–Манна–Уитни при $p < 0,05$)



После введения капсикозида мышам-самцам отмечалось достоверное увеличение содержания общего белка и снижение содержания мочевины – 105 и 86% соответственно, что может свидетельствовать о преобладании анаболических процессов над катаболическими. Снижение активности ХЭ на 65% от контроля на фоне снижения уровня мочевины может быть обусловлено изменением функционального состояния печени, ответственной за синтез этих метаболитов. Введение капсикозида мышам-самкам привело к достоверному увеличению содержания холестерина и снижению содержания мочевины – 134 и 73% соответственно при неизменной активности ХЭ.

Результаты проведенного исследования указывали на то, что капсикозид как представитель ФСГ в дозе 50 мг/кг у мышей-самцов вызывал подавление лимфоцитарного роста, тогда как у мышей-самок наблюдалась его стимуляция.

Такое противоположное влияние ФСГ на мышей разного пола не может быть объяснено токсическим воздействием на организм млекопитающих. Наиболее вероятным объяснением данного феномена может быть влияние ФСГ на лимфопоэз через гормональные механизмы. Более того, ФСГ обладали разнонаправленным в зависимости от пола животных действием на биохимические и физиологические процессы в организме мышей.

У мышей-самцов, получавших капсикозид, увеличение уровня общего белка и снижение мочевины в плазме крови сопровождалось более значительным нарастанием массы тела по сравнению с контрольной группой, что указывало на преобладание анаболических процессов.

Наблюдавшееся у подопытных самцов сопутствующее снижение активности ферментов под влиянием нагрузки стероидными гликозидами может быть обусловлено изменением функционального состояния печени, ответственной за их синтез. Именно о преимущественном влиянии ФСГ на печень и сердце указывало и увеличение массовых характеристик этих внутренних органов. ФСГ оказали воздействие и на систему крови. Введение в организм мышей-самцов стероидных гликозидов сопровождалось угнетением лимфоидного роста костного мозга, как это наблюдается под действием кортикостероидов.

Введение капсикозида мышам-самкам приводило к нарастанию массы тела, увеличению содержания холестерина и снижению мочевины в плазме, что свидетельствовало о некотором анаболическом действии стероидных глико-

зидов и в женском организме. Но у самок не наблюдалось подавления лимфоидного роста костного мозга, характерного для кортикостероидов.

Общим для мышей обоего пола являлось увеличение в плазме крови холестерина. Данный факт может быть еще одним свидетельством возможного использования организмом млекопитающих ФСГ, в качестве источника для синтеза холестерина и других химических соединений стероидной структуры, прежде всего, гормонов коры надпочечников и половых гормонов. Последние в зависимости от половой принадлежности животных могут обеспечивать тот или иной анаболический эффект.

Заключение

Полученные данные позволили сделать вывод о том, что хроническое воздействие на организм млекопитающих фураностаноловых стероидных гликозидов, на примере капсикозида в дозе 50 мг/кг, не оказывало токсического эффекта. Вместе с тем, обнаружено определенное воздействие ФСГ на биохимические и физиологические процессы в организме, обуславливающее анаболический эффект, изменение картины крови, содержание субстратов и активность ферментов. Специфика этого воздействия связана с полом животного. Основываясь на химической структуре ФСГ, можно предположить возможную реализацию биологического эффекта стероидных гликозидов через их участие в стимуляции синтеза в организме животных веществ, имеющих стероидную структуру, в том числе глюкокортикоидов и половых гормонов.

Список литературы

1. Кинтя П. К., Лазурьевский Г. В., Балашова Н. Н., Балашова И. Т., Суружну А. И., Лях В. А. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фураностана. Кишинев : Штиинца, 1987. 144 с.
2. Васильева И. С., Пасеиниченко В. А. Стероидные гликозиды растений и культуры клеток диоскореи, их метаболизм и биологическая активность // Успехи биол. химии. 2000. Т. 40. С. 153–204.
3. Исаева В. Г., Пасеиниченко В. А., Васильева И. С., Суринова В. И. Иммуномодулирующие и противолучевые свойства стероидных гликозидов культивируемых клеток *Dioscorea deltoidea* Wall // Труды регионального конкурса научных проектов в области естественных наук. 2005. Вып. 9. С. 205–212.
4. Дубинская В. А., Стрелкова Л. Б., Васильева И. С., Николаева С. С., Ребров Л. Б., Пасеиниченко В. А. Анаболические свойства фураностаноловых гликози-



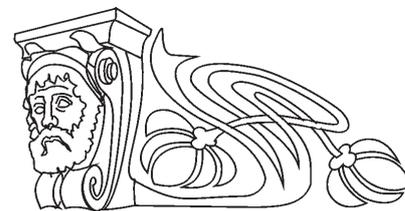
- дов *Dioscorea deltoidea* Wall // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 1998. № 8. С. 178–181.
5. Максимовских С. Ю. Защита картофеля от болезней препаратами группы «стероидные гликозиды» в условиях Курганской области : автореф. дис. ... канд. с/х наук. Краснодар, 2012. 24 с.
 6. Grigorovich M. A., Kudrin B. I., Evdocimov A. N. Investigation of chronic toxicity of furostanolic steroidal glycosides from semen *Capsicum annum* L. // Bitheno-
logii avansate-realizari si perspective. III Simpozion national cu participare international. Chisinau, 2013. P. 47.
 7. Меньщиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник. М. : Медицина, 1987. 368 с.
 8. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л. : Медицина, 1973. 144 с.
 9. Лакин Г. Ф. Биометрия. М. : Высш. шк., 1973. 343 с.

УДК 579.835+581.19

ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ АЗОСПИРИЛЛ НА СОДЕРЖАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИЗОФОРМ ПЕРОКСИДАЗЫ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Л. В. Косицына, С. А. Коннова, А. А. Галицкая,
Ю. П. Федоненко¹, Е. П. Шувалова

Саратовский государственный университет
¹Институт биохимии и физиологии растений
и микроорганизмов РАН, Саратова
E-mail: Konnovasa@yandex.ru



Приведены данные по определению содержания гваяколзависимой и *o*-фенилензависимой пероксидазы в корнях 2-суточных проростков пшеницы, выращенных в присутствии препаратов ЛПС ассоциативных diazotrophic ризобактерий *A. brasilense* Sp107 и S17. Показано увеличение активности гваяколовой пероксидазы, вызванное полисахаридами обоих штаммов. Выявлены штаммовые различия в действии ЛПС на содержание кислых и нейтральных фракций *o*-фенилензависимой пероксидазы.

Ключевые слова: пшеница, пероксидаза, *Azospirillum*, липополисахарид.

Effect of *Azospirillum* Lipopolysaccharides on the Content of Various Peroxidase Isoforms in Wheat Seedling Roots

L. V. Kositsyna, S. A. Konnova, A. A. Galitskaya,
Yu. P. Fedonenko, Ye. P. Shuvalova

Data are presented on the content of guaiacol- and *o*-phenylene peroxidases in the roots of 2-day-old wheat seedlings grown in the presence of the lipopolysaccharides of the associative diazotrophic rhizobacteria *A. brasilense* Sp107 and S17. It was shown that the activity of guaiacol peroxidase increased under the effect of polysaccharides from both strains. Strain differences in LPS action on the content of acidic and neutral fractions of *o*-phenylene peroxidase were detected.

Key words: wheat, peroxidase, *Azospirillum*, lipopolysaccharide.

Особую роль в реализации ответных реакций растений на биотический стресс играет суперсемейство пероксидаз (КФ 1.11.1.7). Благодаря широкому спектру изоферментов, пероксидаза

активно реагирует на стрессовые воздействия. К числу биогенных элиситоров, вызывающих индукцию синтеза этих защитных ферментов, относят олигосахариды, белки, гликопротеины и липиды. Некоторые элиситоры обнаружены в среде роста микроорганизмов, другие – в составе клеточных стенок и в содержимом цитоплазмы [1]. Подобную реакцию у растений могут вызывать полисахариды и липополисахариды (ЛПС) внешней мембраны грамотрицательных бактерий [2, 3]. Известно изменение ее активности в растительной ткани в ответ на действие различных стрессовых факторов, в том числе метаболитов потенциально опасных для растения фитопатогенных микроорганизмов. Практически не исследован вопрос о том, какие ответные реакции растений вызывает обогащение почвы бактериальными полисахаридами непатогенных бактерий.

Бактерии рода *Azospirillum*, распространенные в почвах прикорневой зоны широкого круга растений, являются diazotrophами, стимулирующими рост и развитие растений, благодаря потенциально высокой азотфиксирующей активности. Данные бактерии способны продуцировать фитогормоны и иные физиологически активные вещества. Большой научный и практический интерес представляют ассоциации бактерий *A. brasilense* со злаками, в частности с пшени-