

УДК 591.18:582.665.11

**ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТОВ *REYNOUTRIA JAPONICA* В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ СТРЕССОГЕННОСТИ**Л.В. Якименко<sup>1</sup>, С.П. Зорикова<sup>2</sup>, О.Г. Зорикова<sup>1</sup>, А.Ю. Маняхин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Межведомственный научно-образовательный центр «Растительные ресурсы» (Горнотаежная станция им. В.Л. Комарова ДВО РАН – Владивостокский государственный университет экономики и сервиса, 690014, Владивосток, ул. Гоголя, 41), <sup>2</sup> Горнотаежная станция им. В.Л. Комарова Дальневосточного отделения Российской академии наук (692533, Приморский край, Уссурийский район, с. Горнотаежное, ул. Солнечная, 26)

**Ключевые слова:** рейнутрия японская, экстракты, нейротропная активность.

Изучали действие сухого и водного экстрактов *Reynoutria japonica* на центральную нервную систему лабораторных животных. Проведенные эксперименты показали, что препараты *R. japonica* проявляют биологическую активность адаптогенного и анксиолитического характера, смещая соотношение пассивно-оборонительных и исследовательских компонентов поведения в сторону последних при тестировании в открытом поле и преодолевая тревожно-фобические проявления в приподнятом крестообразном лабиринте в условиях максимальной сенсорной нагрузки.

Многолетнее травянистое растение рейнутрия японская (*Reynoutria japonica*) обладает значительной биомассой, быстрым приростом, активным семенным и вегетативным размножением [1, 4]. В то же время в качестве потенциального источника биологически активных веществ этот вид сырья изучен слабо. Клинически установлен их нейротропный эффект при сенильной деменции, в эксперименте экстракт листьев проявлял противовоспалительную и эстрогеноподобную активность, водный экстракт листьев – ангиальное и антиангиальное действие [6, 10]. Выделенные резвератрол и его производные оказывают кардиопротективное, противовоспалительное и антиоксидантное действие [5, 9].

Целью настоящего исследования послужило определение действия сухого и водного экстрактов *R. japonica* на центральную нервную систему лабораторных животных.

**Материал и методы.** Исследования проводили на белых беспородных мышах обоего пола массой 20–25 г.

Якименко Людмила Владимировна – д-р биол. наук, руководитель кафедры экологии и природопользования ВГУЭС; e-mail: lyudmila.yakimenko@vvsu.ru

Оценку нейротропной активности проводили в условиях различной стрессогенности с использованием тестов «Открытое поле» (ОП) и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), где в течение пяти минут фиксировали двигательные акты, характеризующие уровень тревожности и эмоциональное состояние животных. Мыши содержались в стандартных условиях вивария на обычном рационе при свободном доступе к воде и естественном световом режиме с соблюдением правил и рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах [7]. В каждом опыте использовали по 9 мышей. Исследуемые препараты вводили интрагастрально через зонд в течение 10 дней в дозе 150 мг/кг – сухой экстракт *R. japonica* (СЭРЯ) и 10 мл/кг – водный экстракт *R. japonica* (ВЭРЯ). (В литературе приводятся сведения об улучшении поведенческих и адаптивных функций организма при различных методах введения и формы растительных препаратов [3, 11].) Последний раз препарат вводили за 40 мин до начала исследования в трех различающихся по уровню сенсорной нагрузки модификациях: «минимально стрессогенной», «максимально стрессогенной» и «переменной нагрузки». Полученные данные обрабатывали с помощью методов параметрической статистики.

**Результаты исследования.** В минимально стрессогенных условиях (тишина, приглушенный свет) в тесте ОП какого-либо действия препарата на поведение мышей не зарегистрировано, достоверные изменения поведения животных экспериментальных групп в сравнении с контролем отсутствовали (табл. 1). Соотношение между суммарными пассивно-оборонительными

Таблица 1

Действие экстракта *R. japonica* на поведение животных в тесте ОП с различным уровнем стрессогенности ( $M \pm m$ )

Сенсорная нагрузка	Группа	Двигательные акты							Сумма актов движения
		пробеги	переход 1	переход 2	стойки	лунки	груминг/фризинг	дефекация/уринация	
Минимальная	контроль	6,8±0,7	3,7±0,6	4,4±0,3	4,6±0,4	5,1±0,7	2,8±0,5	2,1±0,2	29,5
	СЭРЯ	6,2±0,4	4,3±0,3	3,5±0,5	5,3±0,9	4,7±0,2	1,6±0,3	2,0±0,4	27,6
Максимальная	контроль	46,4±1,7	3,8±0,5	1,3±0,4	1,4±0,4	2,2±0,4	13,5±0,3	5,3±0,3	73,9
	СЭРЯ	34,9±1,2 <sup>1</sup>	9,4±0,8 <sup>1</sup>	4,5±0,4 <sup>1</sup>	3,8±0,3 <sup>1</sup>	4,3±0,2 <sup>1</sup>	7,8±0,2 <sup>1</sup>	4,7±0,9	69,4
Переменная	контроль	38,4±2,3	5,7±0,3	2,3±0,2	3,1±0,7	3,3±0,4	9,3±0,6	3,1±0,3	65,2
	СЭРЯ	30,1±1,1 <sup>1</sup>	9,5±0,4 <sup>1</sup>	5,8±0,4 <sup>1</sup>	5,9±0,4 <sup>1</sup>	5,6±0,7 <sup>1</sup>	6,3±0,5	3,0±0,2	66,2

<sup>1</sup> Разница с группой контроля статистически значима.

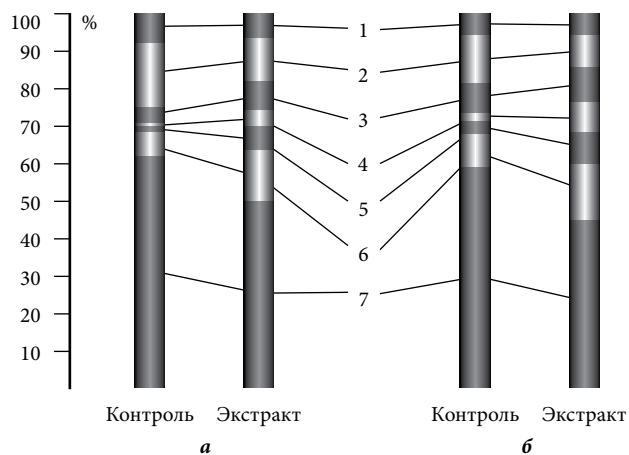


Рис. 1. Действие препарата *R. japonica* на паттерн поведения лабораторных животных в условиях максимальной (а) и переменной (б) стрессогенности в тесте ОП:

1 – дефекация/уринация, 2 – груминг/фризинг, 3 – лунки, 4 – стойки, 5 – переход 2, 6 – переход 1, 7 – пробеги.

и поисковыми поведенческими реакциями составляло 39,7 и 60,3 % в контрольной группе и 35,5 и 64,5 % – на фоне СЭРЯ.

В максимально стрессогенных условиях (яркий свет, звонок) при суммировании двигательных актов, различий между контрольной и экспериментальной группами не выявлено, хотя анализ распределения поведенческих актов в паттерне определил изменения в структуре поведения. Условия переменной стрессогенности показали сходные изменения с условиями максимального воздействия (табл. 1, рис. 1).

Значения уровня тревожности, полученные тестированием в ПКЛ в условиях минимальной и максимальной стрессогенности, приведены в табл. 2.

**Обсуждение полученных данных.** Как показали результаты исследования, в условиях минимального стрессорного воздействия препарат *R. japonica* проявляет тенденцию к повышению поисково-исследовательской активности с одновременным снижением уровня эмоционального напряжения, демонстрируемого через пассивно-оборонительные реакции, что можно рассматривать как понижение уровня неспецифической возбудимости.

В условиях максимальной стрессогенности сумма поведенческих актов в группе животных, принимавшей СЭРЯ, достоверно не отличалась от контроля. Анализ распределения регистрируемых актов позволил выявить расхождение в паттерне поведения контрольной и экспериментальной групп. На фоне введения препарата отмечалось сокращение «барьерного бега» на 24,8 % и «груминга/фризинга» на 42,2 %. Таким образом, в поведении животных уменьшалась доля максимальной (реакция панического бега) и минимальной (реакции затаивания) двигательной активности при помещении в стрессогенные условия. Оба эти поведенческих паттерна являются яркими проявлениями пассивно-оборонительной мотивации. Снижение их встречаемости свидетельствует об уменьшении влияния последней на поведение животных. Известно, что эта группа этологических

Таблица 2  
Действие водного и сухого экстрактов *R. japonica* на поведенческие реакции в ПКЛ (M±m)

Показатель	Группа животных			
	Минимальная сенсорная нагрузка	Максимальная сенсорная нагрузка <sup>2</sup>	Максимальная сенсорная нагрузка + ВЭРЯ <sup>3</sup>	Максимальная сенсорная нагрузка + СЭРЯ <sup>4</sup>
Время в ОР <sup>1</sup> , с	19,7±0,58	1,7±0,63	20,1±0,50	19,6±0,40
Выходы в ОР <sup>1</sup>	4,0±0,25	0,4±0,02	4,2±0,56	3,8±0,35
Стойки	4,5±0,40	2,1±0,41	5,1±0,60	4,9±0,50
Дипинг	3,0±0,26	0,7±0,30	3,5±0,33	2,7±0,32
Груминг	7,8±0,20	12,7±0,90	7,1±0,30	7,9±0,14
Дефекация	0,4±0,05	1,6±0,07	0,5±0,02	0,9±0,04

<sup>1</sup> ОР – открытый рукав.

<sup>2</sup> Разница по сравнению с минимальной сенсорной нагрузкой по всем показателям статистически значима.

<sup>3</sup> Разница по сравнению с максимальной сенсорной нагрузкой по всем показателям статистически значима.

<sup>4</sup> Разница по сравнению с максимальной сенсорной нагрузкой по всем показателям за исключением дефекации статистически значима.

показателей, в которой смыкаются поведенческий и эндокринный компоненты стресса. В частности, автогруминг – форма поведения, возникающая при стрессе и индуцируемая гипофизарными и гипоталамическим стрессорными гормонами [2]. Таким образом, снижение уровня упомянутых показателей свидетельствует о снижении уровня стрессорных гормонов, уменьшении тревожности и определенном антистрессорном (адаптогенном) действии СЭРЯ. Регистрировалось увеличение количества переходов 1-го и 2-го типов в 2,5 и 3,5 раза соответственно. Возрастала вертикальная активность: количество «вертикальных стоек» увеличивалось в 2,7 раза, «заглядываний в лунки» – в 1,95 раза. Подобный всплеск двигательной активности поискового типа свидетельствует о смещении соотношения между оборонительной и исследовательской мотивациями в поведении животных в сторону последней.

Аналогичные изменения в поведении животных наблюдались в условиях переменной стрессогенности. Так, если в контроле суммарная доля пассивно-оборонительных реакций составляла 73,2% от общего числа двигательных актов, то на фоне действия препарата наблюдали возрастание поисковых форм активности на 18,3 % и, соответственно, снижение доли пассивно-оборонительных актов до 54,9 %. Поисковые реакции в общей двигательной активности животных на фоне действия ВЭРЯ увеличивались за счет следующих актов: «переход 1-го типа» – на 66,6 % (в 1,6 раза), «переход 2-го типа» – на 152 % (в 2,5 раза), «стойки» – на 90,3 % (в 1,9 раза), «лунки» – на 69,7 % (в 1,7 раза). На фоне введения препарата отмечалось сокращение «барьерного бега» на 21,6 % и «груминга/фризинга» на 32,3 %. Таким образом СЭРЯ проявляет нейротропную активность в условиях умеренной стрессогенности, снижая уровень тревожно-фобических поведенческих проявлений у экспериментальных животных.

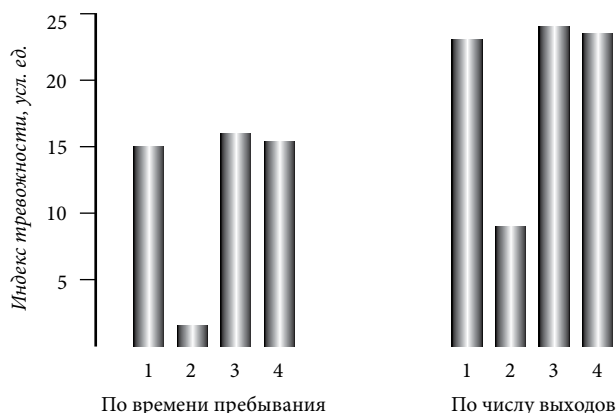


Рис. 2. Изменение индекса тревожности при действии максимальной сенсорной нагрузки и препаратов *R. japonica*: 1 – минимальная нагрузка, 2 – максимальная нагрузка, 3 – максимальная нагрузка + ВЭРЯ, 4 – максимальная нагрузка + СЭРЯ.

В отличие от теста ОП, тестирование в ПКЛ характеризуется тем, что у животного есть выбор между более и менее стрессогенными участками лабиринта. Поэтому пребывание животных в лабиринте и демонстрируемые поведенческие паттерны глубже позволяют оценить уровень тревожности животных.

В ПКЛ при воздействии максимальной стрессорной нагрузки отмечалось значимое уменьшение по сравнению с группой минимального уровня таких показателей поведенческой активности, как время пребывания животных в открытых рукавах лабиринта (в 11,6 раза) и выходы в открытый рукав (в 10 раз). Вертикальная исследовательская активность (число стоек) в группе максимального воздействия достоверно снижалась (практически в 2 раза). Необходимо отметить, что показатель оценки риска «дипинг» (заглядывание вниз из концов открытых рукавов ПКЛ) в указанной группе также более чем в 3 раза снижался по сравнению с аналогичным показателем минимального стресс-фактора, что свидетельствует о возрастании тревожности и сужении поля когнитивного восприятия вследствие действия стрессора.

В соответствии с общепринятой методикой снижение активности исследовательского поведения в условиях ПКЛ однозначно представляют как результат повышения общего уровня тревожности у животных [8]. Эмоциональная активность у мышей при действии максимальной нагрузки проявилась в усилении груминга (в 1,6 раза) при одновременном увеличении уровня дефекации (в 4 раза), по сравнению с минимальным стрессором. Возрастание названных показателей свидетельствует о возрастании уровня стрессорных гормонов, повышении тревожности и усилении стрессорной реакции при действии максимального сенсорного раздражителя.

Продолжая анализ данных (табл. 2), можно заметить, что при сочетанном действии максимальной стрессорной нагрузки и препаратов такой показатель поведенческой активности, как время пребывания животных в открытых рукавах лабиринта, превышает в 11,8 (ВЭРЯ) и 11,5 (СЭРЯ) раза показатели группы

стресс-контроля. Аналогичные изменения наблюдаются и в показателе выходов в открытый рукав, который возрастал практически в 10 раз в обоих случаях. Также возрастал уровень исследовательской активности, что выражалось в увеличении числа стоек с опорой на стенки (в 2,4 и 2,3 раза соответственно) и частоты дипинга (в 5 и 3,8 раза соответственно). Снижение эмоционального напряжения у животных при сочетанном действии максимальной нагрузки и препаратов выразилось в уменьшении количества актов груминга (в 1,7 и 1,6) и дефекации (в 3,2 и 1,8 раза соответственно). Снижение уровня названных показателей свидетельствует об уменьшении тревожности и ослаблении стрессорной реакции.

Под действием препаратов ВЭРЯ и СЭРЯ показатели двигательной, исследовательской и эмоциональной активности достоверно приближались к фоновым, что свидетельствует о снятии психоэмоционального и гормонального напряжения.

Расчет индексов тревожности (рис. 2) обнаружил видимые изменения, оказываемые действием максимального комплекса сенсорной нагрузки на уровень тревожности животных как по времени пребывания в открытых рукавах лабиринта, так и по числу выходов в них. Для группы максимальной нагрузки индекс тревожности по времени нахождения был в 19,3, 20,3 и 19,5 раза меньше, чем в группах минимальной нагрузки и в сочетании с ВЭРЯ и СЭРЯ соответственно, индекс тревожности по числу выходов был меньше в 2,5 раза по сравнению со всеми группами.

В ПКЛ животные групп сочетанного действия препаратов и максимального раздражителя успешно преодолевали действие стрессора. У животных этих групп по сравнению с группой максимального воздействия наблюдалось достоверное увеличение индексов тревожности, что свидетельствует о нормализации психосоматического состояния животных и наличии выраженной биологической активности у препаратов *R. japonica*.

Проведенные эксперименты показали, что препараты *R. japonica* проявляют биологическую активность адаптогенного и анксиолитического характера, смещая соотношение пассивно-оборонительных и исследовательских компонентов поведения в сторону последних при тестировании в ОП и преодолевая тревожно-фобические проявления в ПКЛ в условиях максимальной сенсорной нагрузки.

#### Литература

1. Зорикова С.П., Зорикова О.Г. Интродукция рейнутрии японской (*Reynoutria japonica* Houtt.) в условиях юга Приморского края // Биологические исследования на ГТС: сб. научных трудов. 2011. № 12. С. 152–161
2. Жуков Д.А. Биология поведения: гуморальные механизмы. СПб.: Речь, 2007. 443 с.
3. Лапин И.П. Стресс. Тревога. Депрессия. Алкоголизм. Эпилепсия (Нейрокинурениновые механизмы и новые подходы к лечению). СПб.: ДЕАН, 2004. 224 с.
4. Bimová, K., Mandák, B., Pyšek, P. Experimental study of vegetative regeneration in four invasive *Reynoutria taxa* (Polygonaceae) // Plant Ecology. 2004. Vol. 166, P. 1–11.

5. Chai G., Lee Y., Ku Y. et al. Antimicrobial activity of magnolol and honokiol against periodontopathic microorganism // *Planta medica*. 2005. Vol. 64, No. 4. P. 367–369.
6. Chen W., Xu J., Yin X. et al. Application of emodin-8-beta-D-glucoside // *Chemistry abstracts*. 2001. Vol. 135, No. 298801.
7. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes Strasbourg, 18. III. 1986. URL: <http://conventions.coe.int/Treaty/en/Treaties/Html/123.htm> (дата обращения 03.12.2012).
8. Kaluev A.V., Minasyan A., Yan-Ru L. et al. What can we learn from the mutant mice about the possible link between neurosteroid vitamin D and anxiety // *Psychopharmacology and Biological Narcology*. 2005. Vol. 5, No. 2. P. 878–965.
9. Sato M., Maulic D., Bagchi D., Das K. Mechanism of antioxidant actions of *Pueraria glycoside* and mangiferin // *Free radical resources*. 2007. No. 2. P. 135–144.
10. Selected medicinal plants in Vietnam: in 2 vol. Hanoi, 1999. Vol. 1, 434 p.; Vol. 2, 460 p.
11. White A.M., Simson P.E., Best P.J. Comparison between the effects of ethanol and diazepam on spatial working memory in the rat // *Psychopharmacology*. 1997. Vol. 133, No. 3. P. 256–261.

Поступила в редакцию 18.12.2012.

#### EFFECTS OF EXTRACTS OF *REYNOUTRIA JAPONICA* UNDER STRESS-INDUCING FACTORS

L.V. Yakimenko<sup>1</sup>, S.P. Zorikova<sup>2</sup>, O.G. Zorikova<sup>1</sup>, A.Yu. Manyakhin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Interdepartmental Research and Educational Centre "Plant Resources" (The V. L. Komarov Mountain-Taiga Station, FEB RAS – Vladivostok State University of Economics and Service, 41 Gogolya St. Vladivostok 690014 Russian Federation), <sup>2</sup>The V. L. Komarov Mountain-Taiga Station, FEB RAS (26 Solnechnaya St. Gorno-Tayozhnoye village Primorsky Krai 692533 Russian Federation)

**Summary** – The authors have studied effects of dry and water-based extracts of *Reynoutria japonica* on the central nervous system of laboratory animals. As reported, *R. japonica*-based medications exhibit biological activity of adaptogene and anxiolytic nature, thus shifting the ratio of passive defensive and investigative components of behaviour to the latter ones during in-field testing and surmounting anxiophobic manifestations in the elevated plus maze in case of the maximum sensory load.

**Key words:** *Reynoutria japonica*, extracts, neurotropic activity.

*Pacific Medical Journal*, 2013, No. 2, P. 38–41.

УДК 616.89-008.441.33:577.15:612.392.69

## АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАЖА НАРКОТИЧЕСКОЙ АДДИКЦИИ

М.А. Хасина, Т.А. Махачкеева, М.Ю. Хасина, В.О. Молочников

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

**Ключевые слова:** наркомания, антиоксидантные ферменты, биоэлементы.

В крови лиц с разным стажем наркотической зависимости (5 лет, от 5 до 10 лет, от 10 до 15 лет и свыше 15 лет) определяли активность металлотоксицидных антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы и концентрацию их кофакторов – селена, меди и цинка. Выявлено значительное угнетение активности ферментов на фоне дефицита указанных биоэлементов. Обнаружена зависимость снижения активности ферментов и уменьшения количества биоэлементов от стажа употребления наркотиков. Эта зависимость носит ярко выраженный прогрессирующий характер.

Анализ смертности больных наркоманией показал, что на долю соматической патологии приходится 30 %, в то время как гибель от передозировки составляет около 20 %. Среди причин смерти преобладают заболевания легких, инфекционные и паразитарные заболевания, септическая интоксикация, сердечно-сосудистая, печеночная и почечная недостаточность, нарушения мозгового кровообращения [2–4]. Приведенные данные являются наиболее значимыми показателями, характеризующими тяжесть медицинских и социальных последствий наркомании [3, 5]. Можно предположить, что на фоне хронической интоксикации наркотическими веществами в организме происходит ряд метаболических изменений, играющих ведущую, зачастую универсальную роль в патогенезе и танатогенезе многих различных по этиологии патологических состояний [6]. Одним из

ведущих метаболических изменений является усиление свободно-радикального окисления (СРО), которое не способна компенсировать существующая в организме многокомпонентная антиоксидантная система (АОС). Это продемонстрировано ранее в работах кафедры биологической химии ВГМУ на примере изменения метаболических функций легких, активации перекисного окисления липидов, снижения общей антирадикальной активности и формирования предрасположенности к пневмонии на фоне наркотической аддикции [1].

Ведущая составляющая АОС – ферменты, которые нейтрализуют токсические продукты и свободные радикалы. К ним относятся металлотоксицидные ферменты: супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидаза (ГП), каталаза. Кофакторами СОД являются медь, цинк и марганец [9]. Селен входит в состав ГП, железо – каталазы.

Цель настоящего исследования – проанализировать связь между активностью металлотоксицидных ферментов антиоксидантной защиты и длительностью заболевания у лиц с наркотической зависимостью.

**Материал и методы.** Проанализированы результаты обследования 100 человек. В группу лиц с наркотической зависимостью вошли 80 человек в возрасте от 18 до 40 лет мужского пола, которые находились в 2010–2011 гг. в отделении лечения наркоманий Приморского краевого наркологического диспансера с диагнозом: «синдром отмены опиоидов, неосложненный. Синдром зависимости от опиоидов, систематическое

Хасина Мария Юрьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры биологической химии, клинической лабораторной диагностики, общей и клинической иммунологии ТГМУ; e-mail: 2985823@mail.ru