

Я.Г. Разуваева

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ HUMULUS LUPULUS L. ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ

ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (Улан-Удэ)

В опытах на белых крысах линии Wistar установлено, что сухой экстракт Humulus lupulus L. обладает нейропротекторным действием, нормализуя морфофункциональное состояние головного мозга у белых крыс при хроническом эмоциональном стрессе.

Ключевые слова: Humulus lupulus L., эмоциональный стресс, нейропротекторное действие

MORPHOFUNCTIONAL ESTIMATION OF NEUROPROTECTIVE ACTIVITY OF HUMULUS LUPULUS L., EXTRACT AT THE CHRONIC EMOTIONAL STRESS

Ya. G. Razuvaeva

Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude

In experiments on white rats (Wistar line) it was found that the dry extract of Humulus lupulus L possessed neuroprotective activity at the chronic emotional stress. It was normalized white rats brain morphofunctional status.

Key words: Humulus lupulus L., chronic emotional stress, neuroprotective activity

Стресс оказывает отрицательное влияние на организм, на психическую деятельность и поведение человека, вплоть до полной их дезорганизации, а также приводит к возникновению или обострению течения невротических, психосоматических и органических заболеваний [6]. Достоверно известно, что неврологические нарушения коррелируют со степенью органических изменений в головном мозгу. По мнению большинства авторов [9], основными мишенями действия стресса, в первую очередь, становятся кора больших полушарий головного мозга и гиппокамп.

Перспективным растением в лечении неврологических нарушений, возникающих при стрессовых ситуациях, является хмель обыкновенный (*Humulus lupulus L.*), соплодия которого используются в научной и народной медицине в качестве анальгезирующих, седативных, противовоспалительных и спазмолитических средств [4, 10]. Ранее установлено, что разработанный сухой экстракт соплодий хмеля обыкновенного (ЭСХО) обладает анксиолитическим, ноотропным, стресспротективным, антидепрессивным и антиагрессивным действием [9].

Целью работы явилась морфофункциональная оценка нейропротекторного действия сухого ЭСХО при хроническом эмоциональном стрессе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой тела 170–190 г. Животные находились в стандартных условиях содержания и кормления в виварии (Приказ МЗ № 1179 от 10.10.83 г.). Эксперименты на животных осуществляли в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Хронический эмоциональный стресс воспроизводили иммобилизацией животных в пластмассовых пеналах и погружением их в воду (23 °С) ежедневно в течение 4-х суток на 2 часа [13]. ЭСХО в экспериментально-терапевтической дозе 200 мг/кг вводили внутривенно животным в течение 5 суток до моделирования эмоционального стресса и ежедневно перед помещением животных в пеналы. В качестве препарата сравнения использовали валерианы экстракт (ВЭ) в дозе 120 мг/кг, который вводили по аналогичной схеме. Животные контрольной и интактной групп получали воду очищенную в эквивалентном объеме по аналогичной схеме. Животных интактной группы в пеналы не помещали.

Для оценки антистрессорной активности определяли выраженность триады Селье: гипертрофию надпочечников, инволюцию иммунокомпетентных органов [1]. Головной мозг извлекали для проведения морфологических исследований. Через 24 часа после последнего введения этанола животных декапитировали, головной мозг извлекали и фиксировали в 10% нейтральном формалине и 96° спирте. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином и крезилвиолетом по Нисслю [8]. Для определения степени повреждения структур головного мозга, проводили морфометрический анализ клеточного состава III–V слоев коры головного мозга и гиппокампа. В III–V слоях коры больших полушарий головного мозга подсчитывали количество разных по структуре нейронов: нормохромные, умеренно и резко гиперхромные, умеренно и резко гипохромные, «клетки-тени» [5]. В гиппокампе по степени окраски крезилвиолетом определяли количество (в %) темных и светлых нейронов по отношению к общей сумме клеток [2].

Значимость различий между указанными параметрами среди экспериментальных групп оце-

нивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Различия считались существенными при $p \leq 0,05$ [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что хронический эмоциональный стресс вызывает у животных гипертрофию надпочечников, инволюцию тимуса и селезенки (табл. 1). Курсовое введение животным ЭСХО и ВЭ оказывают выраженное антистрессорное действие, о чем свидетельствует снижение относительной массы надпочечников на 24 и 21 % и увеличение относительной массы тимуса в среднем в 1,4 раза и селезенки – в 1,5 и 1,8 раза соответственно по сравнению с аналогичными показателями у животных контрольной группы (табл. 1).

Результаты патоморфологических исследований показали, что у животных контрольной группы на фоне хронического эмоционального стресса обнаруживаются значительные изменения нейронов III – V слоев коры больших полушарий головного мозга, характеризующиеся появлением значительного количества резко гиперхромных нейронов и резко гипохромных клеток, находящихся в состоянии тотального хроматолиза. Наблюдается набухание нейронов и вакуолизация их цитоплазмы, увеличение количества «клеток-теней», явлений сателлитоза и нейронофагии. Результаты морфометрических исследований показали, что у животных контрольной группы количество резко гиперхромных и резко гипохромных нейронов со-

ставляет 55 %, количество «клеток-теней» – 17 % от общей популяции нейронов (табл. 2).

При введении животным ЭСХО в коре головного мозга белых крыс наблюдаются менее выраженные структурные изменения. Увеличивается количество нормохромных, умеренно гипо- и гиперхромных клеток, уменьшается число резко гипо- и гиперхромных нейронов в III и V слоях коры больших полушарий (табл. 2), что свидетельствует о повышении функциональной активности нейронов. Гиперхромные нейроны встречаются в поле зрения единично, не образуя скоплений. Гипохромия представлена в основном периферическим и центральным хроматолизом, часть клеток содержит мелкие и среднего размера вакуоли. «Клетки-тени» и нейронофагия обнаруживаются местами.

Доказано, что гиппокамп участвует в организации эмоционального поведения и реакции на стресс [3]. По современным представлениям, особенно велико значение гиппокампа в организации познавательных процессов. Так, прямое нарушение этой структуры введением нейронального яда тетродотоксина вызывает у крыс грубые мнестические расстройства. При этом морфологические изменения четко коррелируют со степенью когнитивных нарушений. Результаты морфометрических исследований показали, что ЭСХО предупреждает гибель клеток в гиппокампе, обусловленную эмоциональным стрессом. Так, морфометрический анализ показал, что у животных контрольной группы количество гиперхромных нейронов в гиппокампе

Таблица 1

Влияние экстракта соплодий хмеля обыкновенного и валерианы экстракта на выраженность стрессорных изменений органов у белых крыс при хроническом эмоциональном стрессе

Группы животных	Масса органов мг / 100 г		
	тимус	селезенка	надпочечники
Интактная (H ₂ O), n = 12	145,0 ± 10,80	544,0 ± 30,64	18,5 ± 0,45
Контрольная (стресс + H ₂ O), n = 12	70,3 ± 4,52	345,7 ± 22,74	33,5 ± 1,12
Опытная 1 (стресс + ЭСХО), n = 12	102,4 ± 9,44*	544,3 ± 20,13*	25,3 ± 1,67*
Опытная 2 (стресс + ВЭ), n = 12	100,4 ± 14,31*	634,9 ± 108,2*	26,5 ± 0,97*

Примечание: (здесь и далее) * – значения значимы по сравнению с данными у животных контрольной группы при $p \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

Таблица 2

Влияние экстракта соплодий хмеля обыкновенного и валерианы экстракта на количество разных типов нейронов в коре больших полушарий головного мозга у белых крыс при хроническом эмоциональном стрессе

Типы клеток	Группы животных		
	Контрольная (стресс + H ₂ O), n = 6	Опытная 1 (стресс + ЭСХО), n = 6	Опытная 2 (стресс + ВЭ), n = 6
нормохромные	3,8 ± 0,43	7,2 ± 0,85*	6,5 ± 0,56*
умеренно гипохромные	12,2 ± 2,01	28,6 ± 3,28*	26,6 ± 3,12*
резко гипохромные	31,5 ± 4,19	22,6 ± 2,48	25,2 ± 3,12
умеренно гиперхромные	11,7 ± 1,09	23,4 ± 2,89*	21,4 ± 2,97*
резко гиперхромные	23,8 ± 1,97	11,0 ± 1,23*	13,3 ± 1,45*
«клетки-тени»	16,9 ± 2,13	7,2 ± 1,23*	7,6 ± 0,80*

составляет 23 % (рис. 1). Введение животным ЭСХО и ВЭ на фоне хронического эмоционального стресса снижает количество гиперхромных нейронов на 25 % по сравнению с таковым у животных контрольной группы.

Данное влияние ЭСХО на морфофункциональное состояние ЦНС обусловлено представленным в нем комплексом биологически активных веществ: α - и β -кислоты, халконы (ксантогумол, изоксантогумол, дезметилксантогумол), флавоны, проантоцианидины и другие [4, 11]. Установлено, что фракции шишек хмеля, содержащие α - и β -кислоты, оказывают выраженное седативное и антидепрессивное действие [14]. Халконы и проантоцианидины обладают антиоксидантной активностью, ингибируя окисление липопротеидов низкой плотности [13, 15].

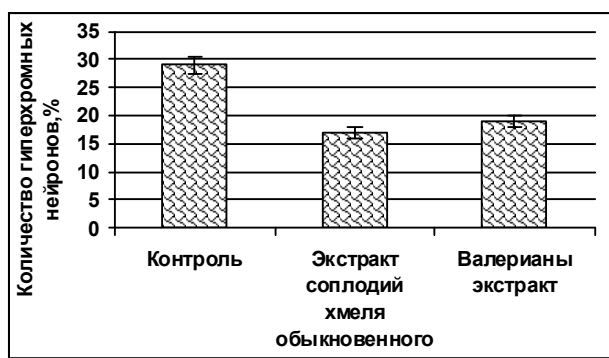


Рис. 1. Влияние экстракта соплодий хмеля обыкновенного и валерианы экстракта на количество гиперхромных клеток в гиппокампе при хроническом эмоциональном стрессе у белых крыс.

Таким образом, курсовое введение белым крысам ЭСХО на фоне хронического эмоционального стресса вызывает снижение количества регрессивных клеточных форм во всех исследуемых отделах головного мозга. При этом происходит увеличение количества нормохромных, умеренно гипо- и гиперхромных клеток в коре головного мозга у белых крыс и снижение числа резко гиперхромных нейронов в гиппокампе, что свидетельствует о повышении функциональной активности нейронов.

ЛИТЕРАТУРА

- Амосова Е.Н., Зуева Е.П., Разина Т.Г. Поиск новых противоязвенных средств из растений Сибири и Дальнего Востока // Экспер. и клинич. фармак. — 1998. — Т. 61. — С. 31–35.
- Артюхина Н.И., Русинова Е.В. Асимметрия структурных изменений в гиппокампе кролика при

состоянии «животного гипноза» // Доклады акад. наук. — 2002. — Т. 385, № 6. — С. 830–832.

- Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., Булгакова А.С. Сравнительная оценка антистрессорной активности эпифизарного гормона мелатонина и диазепама // Экспер. и клинич. фармак. — 2007. — Т. 70, № 6. — С. 9–12.

- Беленовская Л.М., Буданцев А.А. Компонентный состав и биологическая активность *Humulus lupulus* L. (Canabaceae) // Раст. ресурсы. — 2008. — Т. 44, Вып. 2. — С. 132–154.

- Боголепов Н.Н. и др. Структурно-функциональная характеристика нейронов сенсомоторной коры головного мозга у крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу // Бюлл. экспер. биол. и мед. — 2001. — Т. 132, № 8. — С. 124–128.

- Вознесенская Т.Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий // Межд. невролог. журнал. — 2007. — № 2, Вып. 12. — С. 45–49.

- Захарова И.А. и др. Влияние антител к глутамату и ГАМК на развитие стрессорных реакций у мышей С57 // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2009. — Т. 147, № 3. — С. 272–275.

- Микроскопическая техника: Руководство / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.А. Перова. — М.: Медицина, 1996. — 544 с.

- Мухаметшина Э.И. Применение антител к мозгоспецифическому белку s-100 при лечении невротических расстройств у пациентов с заболеваниями пищеварительной системы // Клинист. — 2008. — № 1. — С. 54–57.

- Разуваева Я.Г. и др. Психотропное действие экстракта соплодий *Humulus lupulus* L. // Вестник Бурятского государственного университета. — 2010. — Вып. 12: Медицина. — С. 41–45.

- Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. — СПб.; М., 2008. — Т. 1. — 421 с.

- Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. — М., 2006. — 256 с.

- Diaz M.N. et al. Antioxidants and atherosclerotic heart disease // N. Engl. J. Med. — 1997. — Vol. 337. — P. 408–416.

- Schiller H. et al. Sedating effects of *Humulus lupulus* L. extracts // Phytomed. — 2006. — Vol. 13, N 8. — P. 535–541.

- Stevens J.F. et al. Identification and in vitro biological activities of hop proanthocyanidins: Inhibition of nNOS activity and scavenging of reactive nitrogen species // J. Agric. Food Chem. — 2002. — Vol. 50, N 12. — P. 3435–3443.

Сведения об авторе

Разуваева Янина Геннадьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 43-37-13, факс: 43-30-34; e-mail: tatur75@mail.ru)