

Т.Б. Смагулова ¹, Я.Г. Разуваева ², С.М. Николаев ^{1, 2}

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА «ФИТОТОН»

¹ ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (Улан-Удэ)

² ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (Улан-Удэ)

³ ГБОУ ДПО Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

Проведено исследование нейропротективной активности растительного средства «Фитотон». В опытах на белых крысах (Wistar) установлено, что «Фитотон» обладает широким спектром нейропротективной активности, снижая у животных уровень тревожности, ослабляя пассивно-оборонительную реакцию, повышая ориентировочно-исследовательское поведение, а также оказывая ноотропное, анксиолитическое и антигипоксическое действие.

Ключевые слова: «Фитотон», нейропротективное влияние

RESEARCH OF NEUROPROTECTIVE ACTIVITY OF PHYTOREMEDY «PHYTOTON»

T.B. Smagulova ¹, Ya.G. Razuvaeva ², S.M. Nikolayev ^{1, 2}

¹ Buryat State University, Ulan-Ude

² Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude

³ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

The research of neuroprotective activity of phytoremedy «Phytoton» was performed. In experiments on white rats (Wistar line) it was found that «Phytoton» possesses pronounced neuroprotective activity. «Phytoton» reduced the level of anxiety in animals, attenuated substituting passive defensive reaction, increased orientation and exploratory behavior, and provided nootropic, anxiolytic, antihypoxia action.

Key words: «Phytoton», neuroprotective effect

Для лечения неврологической патологии с глубокой древности применяются лекарственные растения, обладающие тонизирующими и адаптогенными свойствами: женьшень, аралия маньчжурская, заманиха, родиола розовая и другие [1].

В Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН разработано растительное средство, представляющее собой сироп с 15% содержанием экстрактов сухих растений: *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim (стебли и листья), *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. (листья) и *Mentha piperita* L. (стебли и листья) в соотношениях 1:1:1, условно названное «Фитотон». Ранее, в условиях эксперимента было установлено, что указанное средство обладает выраженной адаптогенной активностью, повышает сопротивляемость организма животных к действию экстремальных факторов различной природы: интенсивная физическая нагрузка, гипоксия и др. [10].

Цель исследования: определение спектра нейропротективной активности «Фитотона».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на белых крысах линии Wistar с исходной массой 160 – 180 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.

Исследуемое средство «Фитотон» вводили крысам первой опытной группы внутрижелудочно в дозе 300 мг/кг, в пересчете на сухое вещество, 1 раз в сутки в течение 7 дней до начала эксперимента. Животные второй опытной группы получали препарат сравнения – настойку элеутерококка в объеме 5 мл/кг, крысы контрольной группы – эквивалентное количество воды очищенной в аналогичном режиме. Тестирование животных в экспериментальных установках проводили через 1 час после последнего введения исследуемых средств.

Ориентировочно-исследовательскую активность «Фитотона» изучали в тесте «открытое поле». Регистрировали горизонтальную активность (число пересеченных центральных и периферических квадратов), вертикальную активность (число подъемов на задние лапы), норковый рефлекс (число заглядываний в норки), количество актов дефекаций и груминга, который подразделяли на «короткий» (менее 5 сек) и «длительный» (более 5 сек). Об общей двигательной активности судили по сумме вертикального, горизонтального компонентов и норковому рефлексу [4].

Об анксиолитической активности исследуемого средства судили по поведению животных в тестах «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) и конфликтной ситуации по Vogel. В ПКЛ в течение 5 минут регистрировали время пребывания животных в открытых и закрытых рукавах и количество заходов в открытые и закрытые рукава установки [4]. Конфликтную ситуацию по Vogel создавали, сталкивая питьевую и оборонительную

мотивации, путем подавления болевым электрическим раздражителем питьевого рефлекса при потреблении крысами воды из чашки. Об анксиолитическом влиянии исследуемых средств судили по числу наказуемых взятий воды животными [4].

Процессы обучения и памяти у интактных животных оценивали по выработке и сохранности условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) [4]. Регистрировали количество животных с выработанным рефлексом и латентный период захода животных в темный отсек установки через 1 час, 24 часа и 7 суток после выработки рефлекса.

Влияния «Фитотона» на ГАМК-ергическую систему исследовали с помощью метода конфликтной ситуации по Vogel. Блокаду ГАМК_A-рецептора вызывали бикакулином (Sigma, США) в дозе 1,0 мг/кг внутрибрюшинно, а блокаду хлорного канала — пикротоксином (Sigma, США) в дозе 1 мг/кг внутрибрюшинно.

Антигипоксическое действие растительного средства «Фитотон» изучали на трех моделях: гемическая, гистотоксическая и нормобарическая гипоксии. Регистрировали продолжительность жизни животных по последнему агональному вдоху (резервное время) [6].

Значимость различий между указанными параметрами среди опытной и контрольной групп животных оценивали с помощью непараметрического критерия Манна — Уитни. Различия считали существенными при $p \leq 0,05$ [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что курсовое введение белым крысам «Фитотона» и экстракта элеутерококка увеличивает общую двигательную активность животных в 3,6 и 4,0 раза соответственно за счет всех показателей по сравнению с контролем. При этом на фоне введения исследуемых средств отмечаются не только увеличение количества посещений животными периферических квадратов (в 3,9 и 4,6 раза соответственно), а также наблюдаются заходы в центральную зону установки. Так, в опытных группах 50 % животных посетило центральные квадраты, и, как следствие, у них наблюдается норковый рефлекс, тогда как в контрольной группе ни одно животное не зашло в центр установки. Об усилении исследовательской активности у животных, на фоне введения исследуемых средств, также свидетельствует увеличение вертикальной активности в среднем в 2,2 раза по сравнению с данными у крыс контрольной группы (табл. 1).

Количество актов дефекаций и «короткого» груминга у животных опытных групп в тесте «открытое поле» значимо не отличается от таковых показателей у животных контрольной группы. При этом на фоне введения крысам «Фитотона» и элеутерококка увеличивается количество актов «длительного» груминга в 4,3 и 2,7 раза по сравнению с контролем, что по данным литературы [5] свидетельствует о снижении у животных уровня эмоциональности (табл. 1).

Таблица 1
Влияние растительного средства «Фитотон» и экстракта элеутерококка на поведение белых крыс в тесте «открытое поле» и приподнятый крестообразный лабиринт

Показатели		Группы животных		
		Контрольная (H ₂ O), n = 10	Опытная 1 («Фитотон»), n = 10	Опытная 2 (Элеутерококк), n = 10
«Открытое поле»				
Общая двигательная активность		5,9 ± 0,87	21,1 ± 5,22*	23,7 ± 5,43*
Горизонтальная активность	Периферические квадраты	2,8 ± 0,73	10,9 ± 1,95*	13,0 ± 2,17*
	Центральные квадраты	—	2,4 ± 0,76*	2,0 ± 0,86*
Количество животных, посетивших центральные квадраты, %		0	50	50
Вертикальная активность		3,1 ± 0,61	6,4 ± 1,41	7,0 ± 1,19*
Норковый рефлекс		—	1,4 ± 0,43*	1,7 ± 0,54*
Дефекации		1,6 ± 0,24	1,4 ± 0,54	1,4 ± 0,11
Груминг	«короткий»	1,6 ± 0,12	1,6 ± 0,23	1,7 ± 0,21
	«длинный»	0,3 ± 0,12	1,3 ± 0,21*	0,8 ± 0,11*
Приподнятый крестообразный лабиринт				
Количество заходов	закрытый рукав	1,5 ± 0,09	1,8 ± 0,21	2,9 ± 0,86
	открытый рукав	0,4 ± 0,09	0,5 ± 0,11	1,7 ± 0,76
Время пребывания, сек	закрытый рукав	288,1 ± 2,45	289,8 ± 2,82	251,2 ± 9,78
	открытый рукав	3,3 ± 1,18	4,3 ± 1,63	22,7 ± 5,76
	центральная площадка	8,6 ± 1,23	5,9 ± 0,76	21,1 ± 7,61

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

Результаты тестирования животных в ПКЛ показали (табл. 1), что контрольные животные предпочитают большую часть времени проводить в закрытых рукавах, чем в открытых. Курсовое введение животным «Фитотона» вызывает незначительное увеличение количества заходов в открытые рукава (на 25 %) и времени проведенного в них (на 30 %) по сравнению с контролем. Тогда как во второй опытной группе у животных, получавших препарат сравнения — элеутерококк, количество заходов в открытые рукава лабиринта увеличивается в 4,3 раза и время, проведенное в них, — в 6,9 раза по сравнению с таковыми показателями у животных контрольной группы.

При проверке выработки УРПИ установлено (табл. 2), что в группе животных, получавших «Фитотон» в дозе 300 мг/кг, рефлекс выработался в 100 % случаев и сохраняется на данном уровне через 24 часа, при 70 % показателе во второй опытной и контрольной группах (табл. 2). Результаты проверки сохранности рефлекса показали, что «Фитотон» в дозе 300 мг/кг оказывает выраженное влияние на процесс консолидации памяти, о чем свидетельствует сохранность рефлекса у 80 и 70 % животных данной опытной группы соответственно на 3-и и 7-е сутки тестирования. Латентный период захода животных в темный отсек установки у животных, получавших «Фитотон», на начальных сроках тестирования (1 час и 24 часа) ниже в среднем в 1,3 раза, на поздних (3-и и 7-е сутки) — в 1,6 раза по сравнению с таковыми показателями у животных контрольной группы. При этом введение животным препарата сравнения — экстракта элеутерококка не оказывает влияния на выработку и сохранность рефлекса в тесте УРПИ (табл. 2).

При моделировании конфликтной ситуации по Vogel установлено (рис. 1), что курсовое введение животным «Фитотона» и элеутерококка устраняет чувства тревоги и страха, увеличивая число наказуемых взятий воды в среднем в 1,2 раза по сравнению с таковым показателем у контрольных животных.



Рис. 1. Влияние растительного средства «Фитотон» и экстракта элеутерококка на поведение крыс в конфликтной ситуации в методике конфликтной ситуации по Vogel у интактных животных и на фоне введения бикукуллина и пикротоксина.

Введение животным блокатора хлорного канала — пикротоксина и блокатора ГАМК_A рецептора — бикукуллина уменьшает число наказуемых взятий воды на 26 и 35 % соответственно по сравнению с показателями у интактных животных (рис. 1). Применение «Фитотона» и элеутерококка на фоне введения пикротоксина и бикукуллина увеличивает количество наказуемых взятий воды в среднем в 2,0 раза по сравнению с данными у животных контрольной группы.

Результаты исследований, представленные в таблице 4, показывают, что предварительное введение животным «Фитотона» и элеутерококка способствует увеличению резервного времени жизни при острой гемической гипоксии на 25 и 20 %, при тканевой гипоксии — на 27 и 22 %, при нормобарической — на 31 и 25 % соответственно по сравнению с таковой у животных контрольной группы.

Таким образом, учитывая, что стойки и заходы животных в центральные квадраты являются основными критериями исследовательской активности, чувствительными к уровню тревожности [12], а повышение общей активности животных в данном тесте и увеличение количества актов дли-

Таблица 2
Влияние растительного средства «Фитотон» и экстракта элеутерококка на процессы обучения и памяти у интактных крыс

Группы животных	Сроки тестирования			
	1 час	24 часа	3-и сутки	7-е сутки
Латентный период, с				
Контрольная (H ₂ O), n = 10	129,0 ± 20,7	127,9 ± 11,8	97,6 ± 21,7	101,5 ± 15,7
Опытная 1 («Фитотон»), n = 10	180,0 ± 0,00*	180,0 ± 0,00*	166,7 ± 13,0	163,9 ± 12,7
Опытная 2 (элеутерококк), n = 10	115,2 ± 18,4	117,0 ± 16,8	103,6 ± 17,4	93,9 ± 15,6
Количество животных с выработанным рефлексом, %				
Контрольная (H ₂ O), n = 10	70	60	30	30
Опытная 1 («Фитотон»), n = 10	100	100	80	70
Опытная 2 (элеутерококк), n = 10	70	70	40	30

Таблица 3

Влияние растительного средства «Фитотон» и экстракта элеутерококка на продолжительность жизни белых крыс при гемической, гистотоксической и нормобарической гипоксиях

Группы животных	Продолжительность жизни, мин		
	гемическая	гистотоксическая	нормобарическая
Контрольная (H ₂ O), n = 6	35,3 ± 2,81	20,5 ± 0,80	43,6 ± 1,61
Опытная 1 («Фитотон»), n = 6	44,2 ± 1,45*	26,0 ± 1,56*	57,1 ± 2,74*
Опытная 2 (элеутерококк), n = 6	42,2 ± 1,73*	25,0 ± 2,38*	54,4 ± 3,39*

тельного груминга — следствием снижения уровня их стрессирования и эмоциональности [5], можно заключить, что «Фитотон» в дозе 300 мг/кг снижает у животных уровень тревожности, ослабляет пассивно-оборонительную реакцию и повышает ориентировочно-исследовательское поведение. При исследовании анксиолитических свойств «Фитотона» выявлено, что в условиях ненаказуемого поведения (ПКЛ) экстракт оказывает умеренное влияние, уступающее по эффективности препарату сравнения — экстракту элеутерококка, а в условиях наказуемого — их действия сравнимы. Данный эффект исследуемого средства, вероятно, обусловлен входящим в его состав *F. ulmaria*. Так, экспериментально на моделях тревожных состояний у экстракта *F. ulmaria* (50 мг/кг) выявлено выраженное противотревожное и анксиолитическое действие [2].

На модели УРПИ установлено, что «Фитотон» оказывает выраженное влияние на процессы обучения и консолидации памяти у животных, что выражается в ускорении выработки условного рефлекса и сохранности памятного следа в отдаленные после обучения сроки. В основе ноотропного действия фитоэкстракта лежит способность биологически активных веществ, содержащихся в данном средстве, оказывать защитное действие на функцию головного мозга. Так, отвар и настой из листьев *B. crassifolia* обладают антигипоксическим [7, 8]; спиртовой экстракт — ноотропным и церебропротекторными свойствами [11]. В эксперименте установлены выраженные нейропротективные свойства у экстракта *M. piperita* [13].

Нейропротективное действие «Фитотона» обусловлено стимуляцией ГАМК-ергической системы и выраженным антигипоксическим действием. Так, входящие в состав «Фитотона» *B. crassifolia* и *F. ulmaria* обладают выраженным антигипоксическим действием [3, 7, 8]. Также установлено, что экстракт *F. ulmaria* улучшает кинетические характеристики дыхательной активности митохондрий, увеличивает сопряженность субстратного окисления с фосфорилированием, ингибирует ПОЛ на фоне экспериментальной постгипоксической энцефалопатии, развивающейся у крыс после гипоксической травмы [3].

Таким образом, «Фитотон» обладает широким спектром нейропротективной активности, снижая у животных уровень тревожности, ослабляя пассивно-оборонительную реакцию и повышая

ориентировочно-исследовательское поведение, а также оказывая ноотропное и анксиолитическое влияние. В реализации нейропротективного действия «Фитотона» возможно участие ГАМК-ергической системы, а также антигипоксическая активность изучаемого средства, обусловленные широким спектром биологически активных веществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арушанян Э.Б. Препараты корня женьшеня и других растительных адаптогенов как ноотропные средства // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2008. — Т. 71, № 6. — С. 58 — 66.
2. Венгеровский А.И. и др. Противотревожные и энергорегуляторные свойства водного экстракта из *Filipendula vulgaris* (Rosaceae) // Растительные ресурсы. — 2011. — Т. 47, Вып. 3. — С. 136 — 145.
3. Венгеровский А.И., Суслов Н.И., Кайгородцев А.В. Влияние экстракта лабазника обыкновенного на биоэнергетику головного мозга при экспериментальной постгипоксической энцефалопатии // Бюл. эксперимен. биологии и медицины. — 2011. — Т. 151, № 4. — С. 401 — 405.
4. Воронина Т.А., Островская Р.У. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М., 2005. — С. 153 — 161.
5. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М., 2005. — С. 253 — 263.
6. Калув А.В. Стресс, тревожность и поведение. Актуальные проблемы моделирования тревожного поведения животных. — Киев, 1998. — 96 с.
7. Лукьянова Л.Д. Методические рекомендации по скринингу и доклиническому испытанию антигипоксических средств. — М., 1989. — 12 с.
8. Макаров В.Г. и др. Изучение антиоксидантной антигипоксической активности экстрактов бадана толстолистного // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения. — СПб., 2005. — С. 94 — 102.
9. Пастушенков Л.В., Лесиовская Е.Е. Растения антигипоксанты. — СПб., 1991. — 96 с.

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

11. Смагулова Т.Б., Тэн Н.В., Николаев С.М. Адаптогенное действие комплексного растительного средства «Фитотон» в условиях эксперимента // Сиб. мед. журнал. — 2008. — № 4. — С. 80—82.

12. Хазанов В.А., Смирнова Н.Б., Ильюшенко С.В. Митохондриальные эффекты в механизме цитеробропротекторного действия экстракта бадана

толстолистного при гипоксии // Бюл. эксперимен. биологии и медицины. — 2001. — Прил. 1. — С. 34—38.

13. Voronina T.A. et al. Antibodies to S-100 protein in anxiety-depressive disorders in experimental and clinical conditions // Animal models in biological psychiatry. — N.Y., 2006. — P. 137—152.

14. Lopez V. et al. Neuroprotective and neurochemical properties of mint extracts // Phytother. Res. — Vol. 24, N 6. — P. 869—874.

Сведения об авторах

Смагулова Туяна Базаржаповна — аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24; e-mail: vaialet@yandex.ru)

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.: (3012) 43-37-13; e-mail: tatur75@mail.ru)

Николаев Сергей Матвеевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий Отделом биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: (3012) 43-37-13)