

Я.Г. Разуваева^{1, 2}, А.А. Торопова¹, Н.С. Кухаренко³, С.М. Николаев^{1, 2, 4}, И.П. Убеева^{2, 4}**СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНОЕ И АНТИОКСИДАНТНОЕ ВЛИЯНИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ HUMULUS LUPULUS ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ**¹ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)² Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)³ Дальневосточный государственный аграрный университет (Благовещенск)⁴ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

На белых крысах (Wistar) исследовали стресс-протективное и антиоксидантное влияние сухого экстракта из соплодий *Humulus lupulus* при длительном эмоциональном стрессе. Установлено, что экстракт *H. lupulus* оказывает выраженное стресс-протективное влияние на фоне длительного эмоционального стресса, уменьшая выраженность дегенеративных катаболических изменений во внутренних органах белых крыс. Реализация антистрессорного действия экстракта *H. lupulus* обусловлена его выраженной антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: экстракт из соплодий *Humulus lupulus*, хмель обыкновенный, длительный эмоциональный стресс, стресс-протективное, антиоксидантное действие, ингибирование перекисного окисления липидов

STRESS-PROTECTIVE AND ANTIOXIDANT EFFECT OF HUMULUS LUPULUS DRY EXTRACT AT CHRONIC EMOTIONAL STRESSYa.G. Razuvaeva^{1, 2}, A.A. Toropova¹, N.S. Kukharensko³, S.M. Nikolaev^{1, 2, 4}, I.P. Ubeyeva^{2, 4}¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude² Buryat State University, Ulan-Ude³ Far Eastern State Agrarian University, Blagoveshchensk⁴ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

Stress-protective and antioxidant effects of *Humulus lupulus* dry extract were studied in experiments on white Wistar rats at prolonged emotional stress. It has been established that the *H. lupulus* dry extract had stress-protective effect, reducing the manifestation of degenerative catabolic changes in the internal organs of white rats in chronic emotional stress. The antistress activity of *Humulus lupulus* dry extract is caused by the pronounced antioxidant activity. On the background of the test extract introduction the MDA content decreased and the activity of catalase, SOD and the GSH content in the blood increased.

Key words: *Humulus lupulus* dry extract, *Humulus lupulus*, steady emotional stress, stress-protective and antioxidant effect, inhibition of lipid peroxidation

Широкое распространение тревожных состояний в клинической практике определяет большой интерес к поиску эффективных препаратов для их лечения [1]. Известно, что в развитии тревоги участвуют нейробиохимический и нейроэндокринный уровни: нейромедиаторные системы, а также гормоны или пептиды, антиоксидантная система [5], что определяет значительный интерес к лекарственным средствам растительного происхождения. Так, благодаря разнообразию и значительному содержанию биологически активных веществ, в одном фитопрепарате могут быть реализованы все основные направления этиопатогенетической и симптоматической терапии тревожных расстройств [9]. Лекарственные растения наряду с высокой терапевтической эффективностью, как правило, не обладают побочными отрицательными воздействиями, за исключением отдельных случаев индивидуальной чувствительности [2].

К числу перспективных лекарственных средств следует отнести экстракт из соплодий хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus* L.), обладающего выраженными анксиолитическими, ноотропными, антидепрессивными свойствами [6].

Цель работы: определение стресс-протективного и антиоксидантного влияния экстракта из соплодий хмеля обыкновенного (ЭСХО) при длительном эмоциональном стрессе у белых крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 48 белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180–200 г. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Перед началом экспериментов животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, распределялись на группы с учетом пола, возраста, массы и принципа рандомизации. Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986).

Эмоциональный стресс моделировали помещением крыс в тесные пластиковые цилиндры с по-

следующим погружением их в воду до уровня шеи (20–22 °С) на 2 часа ежедневно в течение 4 суток [3]. ЭСХО в дозе 200 мг/кг вводили животным в течение 7 дней до моделирования эмоционального стресса и затем ежедневно за 1 час до помещения животных в пластиковые цилиндры. В качестве препарата сравнения использовали аптечный экстракт из валерианы (ЭВ) в изоэффективной дозе 120 мг/кг, который вводили животным по аналогичной схеме. Животные контрольной и интактной групп получали воду очищенную в соответствующем объеме.

На 4-е сутки животных декапитировали под эфирным наркозом и определяли «триаду Селье» (гипертрофию надпочечников, инволюцию тимуса и селезенки). Интенсивность процессов свободнорадикального окисления (СРО) биомакромолекул оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови [8]. О состоянии антиоксидантной системы (АОС) судили по активности каталазы в сыворотке крови [4], супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах [10] и содержанию восстановленного глутатиона (GSH) – в крови [11].

Значимость различий между указанными параметрами среди опытной и контрольной групп животных оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Различия считали существенными при $p \leq 0,05$ [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что длительный эмоциональный стресс приводит к гипертрофии надпочечников и инволюции тимуса и селезенки. Как видно из данных, представленных в таблице 1, на фоне эмоционального

стресса у животных контрольной группы масса надпочечников увеличивалась в 1,8 раза, массы тимуса и селезенки снижались, соответственно, на 52 % и 36 %, по сравнению с показателями интактных животных. Курсовое введение животным ЭСХО и ЭВ оказывало выраженное антистрессорное действие, о чем свидетельствовало снижение относительной массы надпочечников на 24 % и 21 % и увеличение относительных масс тимуса (в среднем в 1,4 раза) и селезенки (в 1,6 и 1,8 раза соответственно), по сравнению с аналогичными показателями животных контрольной группы.

Результаты исследований, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что длительная иммобилизация животных вызывает повышение содержания МДА в сыворотке крови и гомогенате ГМ на 46 % и 36 % соответственно, по сравнению с контролем. Активность каталазы в сыворотке крови и в гомогенате ГМ снижается, соответственно, на 63 % и 41 %, активности СОД в эритроцитах – на 53 %, содержание GSH в крови – на 31 %, по сравнению с показателями животных интактной группы. Курсовое введение животным ЭСХО и ЭВ на фоне эмоционального стресса вызывало ингибирование ПОЛ и активацию антиоксидантной системы организма: содержание МДА в сыворотке крови животных опытных групп было ниже аналогичного показателя крыс контрольной группы в среднем на 36 %, активность каталазы, СОД и содержание GSH были выше в 1,3, 1,5 и 1,3 раза соответственно.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что ЭСХО в дозе 200 мг/кг оказывает выраженное стресс-протективное влияние, уменьшая выраженность дегенеративных катаболических

Таблица 1
Влияние ЭСХО и ЭВ на изменение массы (мг/100 г) тимуса, селезенки и надпочечников белых крыс при длительном эмоциональном стрессе

Группы животных	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 (стресс + ЭСХО) (n = 12)	102,4 ± 9,44*	544,3 ± 20,13*	25,3 ± 1,67*
Опытная (стресс + ЭВ) (n = 12)	100,4 ± 14,31*	634,9 ± 108,20*	26,5 ± 0,97*

Примечание. * – здесь и далее различия статистически значимы между данными контрольной и опытной групп при $p \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

Таблица 2
Влияние ЭСХО и ЭВ на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантную активность организма белых крыс на фоне длительного эмоционального стресса

Показатели	Группы животных			
	Интактная (H ₂ O) (n = 6)	Контрольная (стресс + H ₂ O) (n = 6)	Опытная (стресс + ЭСХО) (n = 6)	Опытная (стресс + ЭВ) (n = 6)
МДА, мкмоль/л	2,6 ± 0,21	3,8 ± 0,29	2,4 ± 0,26*	2,5 ± 0,22*
Каталаза, мкат/л	1,9 ± 0,15	0,70 ± 0,050	0,91 ± 0,061*	0,89 ± 0,040*
СОД, усл. ед.	1,7 ± 0,20	0,8 ± 0,04	1,2 ± 0,06*	1,1 ± 0,05*
GSH, мкмоль/мл	1,05 ± 0,043	0,72 ± 0,035	0,94 ± 0,031*	0,97 ± 0,017*

изменений во внутренних органах белых крыс. Снижение на фоне введения животным ЭСХО содержания МДА и повышение активности каталазы, СОД и содержания GSH в биологических жидкостях свидетельствует о том, что стресс-протективное влияние исследуемого фитоэкстракта реализуется за счет его выраженного антиоксидантного действия, поскольку известно, что длительные стрессорные нагрузки приводят к чрезмерному усилению СРО, в результате чего происходит повреждение клеточных мембран и формирование патологического процесса [1]. Выраженное антиоксидантное действие исследуемого экстракта обусловлено представленным в нем комплексом биологически активных веществ: α - и β -кислот, халконов (ксантогумол, изоксантогумол, дезметилксантогумол), флавонов, процианидинов и других соединений. Установлено, что фенольные соединения хмеля обладают выраженными антиоксидантными свойствами. Ксантогумол, изоксантогумол и 8-пренилнارينгенин в микромолярных концентрациях угнетают индуцируемое сульфатом меди или анионом пероксинитрила окисление липопротеинов низкой плотности [12, 14]. Антиоксидантное действие ксантогумола выше, чем у α -токоферола [12]. Также установлено, что высокой антиоксидантной активностью в отношении липопротеинов низкой плотности обладают процианидины хмеля. При этом фенольные соединения и олигомерные процианидины хмеля рассматриваются как потенциальные средства для предотвращения таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, инсульт и атеросклероз [11]. Таким образом, ЭСХО, ограничивая процессы свободнорадикального окисления липидов и активируя ферменты антиоксидантной системы организма, оказывает выраженное стресс-протективное действие.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Александровский Ю.А. Роль транквилизаторов в лечении пограничных психических расстройств // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2007. – № 3. – С. 94–96.
2. Вознесенская Т.Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий // Международный неврологический журнал. – 2007. – Т. 2, Вып. 12. – С. 45–49.
3. Voznesenskaya T.G. Emotional stress and prevention of its consequences // Mezhdunarodnyj nevrologicheskij zhurnal. – 2007. – Vol. 2, Iss. 12. – P. 45–49. (in Russian)
4. Захарова И.А., Ветрилэ Л.А., Евсеев В.А. Влияние антител к глутамату и ГАМК на развитие стрессорных реакций у мышей C57 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147, № 3. – С. 272–275.
5. Zakharova I.A., Vetrile L.A., Evseev V.A. Influence of antibodies to glutamate and GABA on the development of stress-reactions in C57 mice // Buletten' jeksperimental'noj biologii i mediciny. – 2009. – Vol. 147, N 3. – P. 272–275. (in Russian)
6. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Методы определения активности каталазы // Лабор. дело. – 1988. – № 6. – С. 16–19.
7. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G. et al. Methods of determination of catalase activity // Labor. delo. – 1988. – N 6. – P. 16–19. (in Russian)
8. Курпатов В.И., Осипова С.А. Тревожные расстройства в общей медицинской практике // Terra medica. – 2006. – № 2. – С. 45–50.
9. Kurpatov V.I., Osipova S.A. Anxious disorders in general medical practice // Terra medica. – 2006. – N 2. – P. 45–50. (in Russian)
10. Разуваева Я.Г., Николаев С.М., Кабачук Н.В., Нагаслаева О.В. Психотропное действие экстракта соплодий *Humulus lupulus* L. // Вестник Бурятского государственного университета. – 2010. – Вып. 12: Медицина. – С. 41–45.
11. Razuvaeva Y.G., Nikolaev S.M., Kabachuk N.V., Nagaslayeva O.V. Psychoactive effect of *Humulus lupulus* L. stem extract // Vestnik Burjatskogo gosudarstvennogo universiteta. – 2010. – Vol. 12: Medicine. – P. 41–45. (in Russian)
12. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М., 2006. – 256 с.
13. Sergienko V.I., Bondareva I.B. Mathematical statistics in clinical trials. – Moscow, 2006. – 256 p. (in Russian)
14. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью ТБК // Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66–68.
15. Stalnaya I.D., Gariashvili T.G. Method of determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. – Moscow, 1977. – P. 66–68. (in Russian)
16. Турищев С.Н. Формирование вектора психического комфорта фитосредствами // Врач. – 2008. – № 3. – С. 43–45.
17. Turishchev S.N. Formation of vector of mental comfort by phyto remedies // Vrach. – 2008. – N 3. – P. 43–45. (in Russian)
18. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических матрицах // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
19. Chevare S., Chaba I., Sekey Y. Role of superoxide dismutase in oxidative processes in cell and method of its determination in biological matrices // Laboratornoe delo. – 1985. – N 11. – P. 678–681. (in Russian)
20. Anderson T. Omeprazole drug interaction studies // Clin. Pharmacokinet. – 1991. – Vol. 21, N 38. – P. 1603.
21. Miranda C.L., Aponso G.-L.M., Stevens J.F. Prenylated chalcones and flavanones as inducer of quinone reductase in mouse // Cancer Lett. – 2000. – N 149. – P. 21–29.
22. Stevens J.F., Miranda C.L., Wolters K.R. et al. Identification and in vitro biological activities of hop proantho-

cyani-dins: Inhibition of activity and scavenging of reactive nitrogen species // J. Agric. Food Chem. – 2002. – Vol. 50, N 12. – P. 3435–3443.

14. Stevens J.F., Page J.L. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer to your good health // Phytochem. – 2004. – Vol. 65, N 10. – P. 1317–1330.

Сведения об авторах

Разуваева Янина Геннадьевна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 8 (3012) 43-37-13; e-mail: tatur75@mail.ru)

Торопова Анюта Алексеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (e-mail: anyuta-tor@mail.ru)

Кухаренко Наталья Степановна – доктор ветеринарных наук, профессор кафедры морфологии и патологии животных Дальневосточного государственного аграрного университета

Николаев Сергей Матвеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (e-mail: smnikolaev@mail.ru)

Убеева Ираида Поликарповна – доктор медицинских наук, профессор медицинского института Бурятского государственного университета

Information about the authors

Razuvaeva Yanina Gennadjevna – Doctor of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (670047, Ulan-Ude, ul. Sakhjanovoy, 6; tel.: +7 (3012) 43-37-13; e-mail: tatur75@mail.ru)

Toropova Anyuta Alekseevna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: anyuta-tor@mail.ru)

Kukhareenko Nataliya Stepanovna – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Animal Morphology and Pathology of Far Eastern State Agrarian University

Nikolaev Sergey Matveevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: smnikolaev@mail.ru)

Ubeeva Iraida Polikarpovna – Doctor of Medical Sciences, Professor of Medical Institute of Buryat State University