

изменениям в органеллах нейронов, главным образом в митохондриях, эндоплазматической сети и комплексе Гольджи, вызванных интенсификацией ПОЛ.

**Выводы.** На экспериментальном материале старых крыс, подвергнутых воздействию однократного комбинированного стресса, установлены морфологические изменения, характеризующиеся увеличением числа гибнущих/патологически измененных клеток в неокортексе, по сравнению с интактной группой животных. Наиболее характерными морфологическими изменениями являются гиперхроматические нейроны, вакуолизация цитоплазмы клеток, увеличение площади цитоплазмы нейронов клеток II слоя. Также выявлено достоверное увеличение объемов ядер и ци-

топлазм нейронов различных слоев неокортекса опытных крыс. Морфологическая картина гиппокампа экспериментальной группы старых крыс показала наличие сморщенных дегенерирующих нейронов с уменьшением их плотности расположения, при этом не имела существенных отличий от контроля. Таким образом, воздействие стресса значительно усиливает процесс гибели нейронов в головном мозге стареющих животных и является значимым механизмом повреждения нервной ткани.

### Литература

1. Тодоров И.Н. Стресс, старение и их биохимическая коррекция / И.Н. Тодоров, Г.И. Тодоров; под ред. С.М. Алдошина. – М.: Наука, 2003. – 274-279 с.

Todorov I.N. Stress, aging and their biochemical correction / I.N. Todorov, G.I. Todorov; Ed. C.M. Aldoshin. – M.: Science, 2003. – 274-279 p.

2. Comparison of the influence of two models of mild stress on hippocampal brain-derived neurotrophin factor (BDNF) immunoreactivity in old age rats / E. Badowska-Szalewska, B. Ludkiewicz, R. Krawczyk [et al.] // Acta Neurobiol Exp. – 2017. – №77 (1). – P. 68-76.

3. Denham H. Free Radical Theory of Aging: An Update Increasing the Functional Life Span / H. Denham // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2006. – 1067(1). – P. 10-21.

4. Effects of aging on stress-related responses of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of male rats / N. Yamaguchi, N. Nakajima, S. Okada [et al.] // Neurobiol Stress. – 2016. – №30. – P. 43-51.

5. Huiyong Y. Free radical lipid peroxidation: mechanism and analysis / Y. Huiyong, X. Libin, N. A. Porter // Chem.rev. – 2011. – №111(10). – P.5944-5972.

УДК 615.322

## Я.Г. Разуваева, А.А.Торопова, Д.Э. Гармаев СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНОЕ И АНТИОКСИ- ДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАСТОЙКИ *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim.

В опытах на белых крысах линии Wistar исследовано стресс-протективное и антиоксидантное действие настойки *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. Стресс-индуцированное состояние моделировали 18-часовой иммобилизацией животных. Оценивали выраженность триады Селье (гипертрофию надпочечников, инволюцию тимуса и селезенки, наличие деструкций в слизистой оболочке желудка), содержание малонового диальдегида и активность каталазы в сыворотке крови, уровень супероксиддисмутазы в эритроцитах, а также содержание восстановленного глутатиона в крови. Установлено, что настойка *C. dahurica* оказывает выраженное стресс-протективное действие, предотвращая гипертрофию надпочечников, инволюцию тимуса и селезенки, развитие язвенных повреждений слизистой оболочки желудка при стрессе. Настойка ингибирует перекисное окисление липидов и активирует антиоксидантную систему организма на фоне 18-часового иммобилизационного стресса.

**Ключевые слова:** *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim., иммобилизационный стресс, стресс-протективное и антиоксидантное действия.

The stress-protective and antioxidant effects of *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim tincture were estimated in the experiments on white Wistar rats. The stress-induced condition was simulated by immobilization of the animals for 18 hours. There was estimated the evidence of the Selye's triad (hypertrophy of adrenal glands, involution of thymus and spleen, and gastric mucous membrane ulceration, with determination of the Pauls index), the content of malonic dialdehyde and activity of catalase in the blood serum and superoxide dismutase in erythrocytes and the content of the reduced glutathione in the blood. It has been revealed that the *C. dahurica* tincture has a marked stress-protective effect, preventing hypertrophy of the adrenal glands, involution of thymus and spleen, development of ulcerative lesions of the gastric mucosa. The *C. dahurica* tincture inhibits lipid peroxidation and activates the antioxidant system of the body in stress-induced conditions.

**Keywords:** *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim tincture, immobilization stress, stress-protective and antioxidant effects.

**Введение.** Известно, что стресс оказывает негативное воздействие на организм, умственную активность и поведение человека, вплоть до их полной дезорганизации, а также приводит к возникновению или обострению невротических, психосоматических и соматических заболеваний. В этой связи профилактика стресса и его последствий является чрезвычайно актуаль-

ной задачей. Важную роль в лечении стрессовых состояний играет фитотерапия. К средствам растительного происхождения, которые оказывают седативное действие и могут быть использованы для лечения и предотвращения последствий стресса, относятся: *Valeriana*, *Leonurus*, *Crataegus*, *Passiflora*, *Melissa*, *Origanum* и др. Перспективным растением в лечении и профилактике стрессовых ситуаций является многолетнее травянистое растение – *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. Данное растение широко используется в виде порошка, настойки и жидкого экстракта в народной медицине при головных болях, начальных стадиях гипертонической болезни, при

повышенной нервной возбудимости, истерии, бессоннице и др. [11]. В тибетской медицине *C. dahurica* входит в состав сборов, применяющихся при болезнях «гза» («болезни, насылаемые духами»: инсульты, параличи и другие нарушения функций нервной системы) [10]. Известно, что настойка *C. dahurica* оказывает седативное действие, ограничивая двигательную, ориентировочно-исследовательскую активность и рефлекторную возбудимость животных, а также увеличивая продолжительность наркотического сна [6]. В опытах на белых крысах установлено, что настойка *C. dahurica* оказывает выраженное анксиолитическое, антидепрессивное и антиагрес-

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, г. Улан-Удэ: **РАЗУВАЕВА Янина Геннадьевна** – д.б.н., с.н.с., tatur75@mail.ru, **ТОРОПОВА Анюта Алексеевна** – к.б.н., н.с., anyuta-tor@mail.ru, **ГАРМАЕВ Дамдин Эрдынеевич** – аспирант, damdingarmaev@mail.ru.

сивное действие [2, 3]. Способность настойки *C. dahurica* ограничивать выраженность стресс-индуцированных изменений внутренних органов животных можно объяснить входящими в ее состав оксикоричными кислотами [13]. Так, по данным литературы [7], феруловая кислота оказывает выраженное стресс-протекторное действие, ограничивая поражение слизистой оболочки желудка и повреждение миокарда, вызванные иммобилизационно-болевым стрессом.

**Цель исследования** – оценка стресс-протективного и антиоксидантного действия настойки *Cimicifuga dahurica* на фоне 18-часового иммобилизационного стресса.

**Материалы и методы исследования.** Исследования выполнены на 32 белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 160-180 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 г.). Протокол исследования согласован с этическим

комитетом ИОЭБ СО РАН (протокол №3 от 03.09.2012).

Животные были разделены на 4 группы (в каждой по 8 животных): интактная, контрольная и две опытные. Животным 1-й опытной группы в течение 7 дней до моделирования стресс-индуцированного состояния вводили внутривенно деацетилованный раствор настойки *C. dahurica* в дозе 0,5 мл/кг в объеме 1,0 мл/100 г (1 раз в день за 30 мин до кормления). Животным 2-й опытной группы вводили препарат сравнения – валерианы настойку (ОАО Дальхимфарм) в дозе 1,0 мл/кг по аналогичной схеме. Крысы интактной и контрольной групп получали очищенную воду в эквивалентном объеме по аналогичной схеме введения. Иммобилизационный стресс моделировали общепринятым методом путем фиксации животных в положении лежа на спине в течение 18 ч [8]. Животных интактной группы стрессовому воздействию не подвергали.

Для оценки антистрессорной активности исследуемого средства определяли выраженность триады Селье: гипертрофию надпочечников, инволюцию иммунокомпетентных органов – тимуса и селезенки, состояние и появление деструктивных повреждений в слизистой оболочке желудка с подсчетом язвенного индекса Паулса [1]. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по приросту продукта перекисидации – малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови [9]. Состояние эндогенной антиоксидантной системы характеризовали по активности ката-

лазы в сыворотке крови [4], супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах [5] и по содержанию восстановленного глутатиона (GSH) в крови [12].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета программ «Biostat-2006» с использованием t-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми группами считали статистически значимыми при  $P \leq 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Полученные данные показали, что в результате 18-часовой иммобилизации у животных контрольной группы развивается характерная картина стрессорной реакции, которая выражается в инволюции иммунокомпетентных органов: тимуса и селезенки, значительной гипертрофии надпочечников, а также в появлении язвенных повреждений в слизистой оболочке желудка. Так, у животных контрольной группы относительная масса надпочечников была выше показателя животных интактной группы в 1,7 раза, масса тимуса и селезенки ниже на 41 и 61% соответственно (табл. 1).

Установлено, что курсовое введение животным настойки *C. dahurica* в дозе 0,5 мл/кг оказывает выраженное стресс-протективное действие. Об этом свидетельствовали уменьшение степени гипертрофии надпочечников на 31% по сравнению с данными крыс контрольной группы, увеличение массы иммунокомпетентных органов: тимуса на 45%, а селезенки – более чем в 2,0 раза по сравнению с контролем. Наряду с этим превентивное введение испытуемого средства препятствова-

Таблица 1

Влияние настойки *C. dahurica* на выраженность стрессорных изменений органов у белых крыс при 18-часовом иммобилизационном стрессе

Показатели		Группа животных			
		интактная (H <sub>2</sub> O), n=8	контрольная (стресс+H <sub>2</sub> O), n=8	опытная 1-я (стресс + настойка <i>C. dahurica</i> ), n=8	опытная 2-я (стресс + валерианы настойка), n=8
Масса органов, мг/100 г	тимус	123,5±4,50	72,7±4,29	105,6±3,59*	108,2±1,97*
	селезенка	521,0±16,45	204,6±18,63	432,5 ±20,06*	308,3±3,82
	надпочечники	21,0±1,54	36,0±3,02	24,7±1,50*	28,3±0,77*
Кровоизлияния	% поражения животных	0	100	63	63
	среднее число деструкций на 1 животное	0	3,9±0,43	1,1±0,43*	1,3±0,44*
	индекс Паулса	0	3,90	0,69	0,82
Точечные эрозии	% поражения животных	0	75	50	63
	среднее число деструкций на 1 животное	0	1,9±0,55	0,6±0,29	1,0±0,47
	индекс Паулса	0	1,43	0,30	0,63
Полосовидные язвы	% поражения животных	0	67	25	25
	среднее число деструкций на 1 животное	0	0,9±0,47	0,3±0,18	0,4±0,27
	индекс Паулса	0	0,57	0,08	0,10

Примечание. В табл. 1 и 2 \* – различия статистически значимы между контрольной и опытной группами при  $P < 0,05$ ; n – число животных в группе.

Таблица 2

**Влияние настойки *C.dahurica* на показатели свободнорадикального окисления и состояние антиоксидантной системы белых крыс при 18-часовом иммобилизационном стрессе**

Показатель	Группа животных			
	интактная (H <sub>2</sub> O), n=8	контрольная (стресс+H <sub>2</sub> O), n=8	опытная 1-я (стресс + настойка <i>C.dahurica</i> ), n=8	опытная 2-я (стресс + валерианы настойка), n=8
МДА в сыворотке крови, мкмоль/л	10,7±1,64	16,4±1,04	12,5±0,56*	11,5±0,43*
СОД в эритроцитах, усл.ед.	13,1±1,28	2,0±0,30	8,0±0,51*	6,7±0,45*
Каталаза в сыворотке крови, мкат/л	1,4±0,07	0,9±0,08	1,3±0,09*	1,4±0,11*
GSH в крови, мкмоль/л	707,0±30,60	591,0±24,30	767,2±58,08*	715,0±78,77*

ло развитию глубоких деструкций в слизистой оболочке желудка белых крыс. В частности, на фоне 18-часового иммобилизационного стресса у крыс 1-й и 2-й опытных групп кровоизлияния в слизистой оболочке желудка отмечались лишь у 5 животных из 8, тогда как в контрольной группе – у 100% животных. Количество данных деструкций было в среднем в 3,0 раза меньше, чем в контроле, в результате чего индекс Паулса для кровоизлияний в 1-й и 2-й опытных группах был в 5,7 и 4,8 раза ниже, чем в контроле. У 50% животных, получавших настойку *C.dahurica*, отмечались точечные эрозии, в контрольной группе – у 75%. Среднее число данных деструкций на одно животное в 1-й опытной группе было в 3,0 раза меньше, а индекс Паулса – в 4,8 раза по отношению к таковому в контрольной группе. Лишь у четверти животных опытных групп наблюдались полосовидные язвы, а индекс Паулса для них был соответственно в 7,1 и 5,7 раза ниже данного показателя в контрольной группе.

Результаты исследований, представленные в табл.2, показывают, что иммобилизационный стресс сопровождается активацией свободнорадикального окисления, о чем свидетельствуют повышение концентрации МДА на 53%, а также снижение активности ферментов антиоксидантной защиты организма (каталазы, СОД и GSH – в 1,6, 6,6 и 1,2 раза соответственно) по сравнению с показателями интактных животных. Установлено, что курсовое введение животным настоек *C.dahurica* и валерианы вызывает снижение содержания МДА соответственно на 24 и 30%, повышает активность каталазы – в 1,4 и 1,6 раза, содержание GSH – на 30 и 21%, активность СОД – в 4,0 и 3,4 раза по сравнению с показателями контрольных животных.

**Заключение.** Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что настойка *C.dahurica* на фоне иммобилизационного стресса оказывает протективное действие,

уменьшая выраженность стресс-индуцированных изменений во внутренних органах животных. Установлено, что стресс-спротективное действие испытуемого средства связано с его ингибирующим влиянием на процессы свободнорадикального окисления и способностью активировать систему антиоксидантной защиты организма, что обусловлено содержанием в его составе фенольных соединений и сапонинов, проявляющих выраженную антиоксидантную активность [14].

### Литература

- Амосова Е.Н. Поиск новых противоязвенных средств из растений Сибири и Дальнего Востока / Е.Н. Амосова, Е.П. Зуева, Т.Г. Разина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1998. – Т. 61, №6. – Р. 31-35.
- Amosova E.N. Search for new antiulcer drugs from plants in Siberia and the Far East / E.N. Amosova, E.P. Zueva, T.G. Razina // Experimental and Clinical Pharmacology. – 1998. – V.61, №6. – Р. 31-35.
- Гармаев Д.Э. Анксиолитическое действие *Cimicifuga dahurica* / Д.Э. Гармаев, Л.Н. Шантанова, Я.Г. Разуваева, С.М. Николаев // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – Т.121, №6. – Р. 154-155.
- Garmaev D.E. The anxiolytic action of *Cimicifuga dahurica* / D.E. Garmaev, L.N. Shantanova, Ya.G. Razuvaeva, S.M. Nikolaev // Siberian Medical Journal. – 2013. V.121, №6. – Р.154-155.
- Гармаев Д.Э. Психотропное действие настойки *Cimicifuga dahurica* / Д.Э. Гармаев, Я.Г. Разуваева, Л.Н. Шантанова // Вестник Бурятского государственного университета. – 2013. – Вып. 12. – Р. 49-52.
- Garmaev D.E. Psychotropic effect of tincture *Cimicifuga dahurica* / D.E. Garmaev, Ya.G. Razuvaeva, L.N. Shantanova // Bulletin of the Buryat State University. – 2013. – №12. – Р.49-52.
- Королюк М.А. Методы определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
- Korolyuk M.A. Methods for determination of catalase activity / M.A. Korolyuk, L.I. Ivanova, I.G. Mayorova // Laboratory work. – 1988. – №1. – Р.16-19.
- Макаренко Е.В. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в эритроцитах у больных с хроническими заболеваниями печени / Е.В. Макаренко // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 48–50.

Makarenko E.V. Complex determination of the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in erythrocytes in patients with chronic liver diseases / E.V. Makarenko // Laboratory work. – 1988. – №11. – Р.48-50.

6. Никольская Б.С. Настойка цимицифуги даурской / Б.С. Никольская, А.И. Шретер // Медицинская промышленность СССР. – 1961. – №9. – Р. 47-48.

Nikol'skaya B.S. Tincture *Cimicifuga dahurica* / B.S. Nikol'skaya, A.I. Shreter // The medical industry of the USSR. – 1961. – №9. – Р.47-48.

7. Перфилова В.Н. Кардиопротективное действие феруловой кислоты при стрессорном повреждении сердца / В.Н. Перфилова, А.В. Дьяков, И.Н. Тюренков // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 68, № 5. – Р. 19-22.

Perfilova V.N. Cardioprotective action of ferulic acid in stressor damage to the heart / V.N. Perfilova, A.V. D'yakov, I.N. Tyurenkov // Experimental and Clinical Pharmacology. – 2005. – V.68, №5. – Р.19-22.

8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. – М., 2012. – 832 с.

Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / Ed. R.U. Khabriev. – M., 2012. – 832 p.

9. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Д. Горишвили // Современные методы в биохимии. – М., 1977. – Р. 66–68.

Stal'naya I.D. Method for the determination of malonic dialdehyde with thiobarbituric acid / I.D. Stal'naya, T.D. Gorishvili // Modern methods in biochemistry. – M., 1977. – P.66-68.

10. Тибетская медицина у бурят / Т.А. Асеева, Д.Б. Дашиев, А.Д. Дашиев [и др.]. – Новосибирск, 2008. – 324 с.

Tibetan medicine at the Buryats / T.A. Aseeva, D.B. Dashiev, A.D. Dashiev [et al.]. – Novosibirsk, 2008. – 324 p.

11. Шретер А.И. Лекарственная флора Советского Дальнего Востока / А.И. Шретер. – М., 1975. – 327 с.

Shreter A.I. Medicinal flora of the Soviet Far East / A.I. Shreter. – M., 1975. – 327 p.

12. Акерboom Т.П.М. Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples / Т.П.М. Акерboom, H. Sies // Methods Enzymol. – 1981. – Vol.77. – Р. 373-382.

13. Liu I.M. Isoferulic acid as active principle from the rhizoma of *Cimicifuga dahurica* to lower plasma glucose in diabetic rats / I.M. Liu, T.C. Chi, F.L. Hsu, C.F. Chen, J.T. Cheng // *Planta medica*. – 1999. – № 65(8). – Р. 712-714.