

УЧАСТИЕ ЭПИФИЗА В АНТИСТРЕССОРНОМ ДЕЙСТВИИ АДАПТОГЕННЫХ СРЕДСТВ

Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер¹

Хронический стресс вызывает у крыс снижение массы тимуса, гипертрофию надпочечников и изъязвление слизистой оболочки желудка. У животных, получавших препараты растительных адаптогенов (женьшеня и билобила), стрессорные нарушения были выражены слабее. Удаление эпифиза ограничивало антистрессорное действие веществ. Как свидетельствует гисто- и морфометрическое изучение ткани эпифиза у крыс, адаптогены при стрессе повышают его функциональную активность. Предполагается, что изменение активности эпифиза может включаться в механизм реализации антистрессорных свойств растительных адаптогенов.

Ключевые слова: растительные адаптогены; эпифиз; стресс.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в мире сохраняется устойчивый интерес к изучению лечебных возможностей действующих начал целого ряда средств с адаптогенными свойствами, получаемых из лекарственных растений, к числу которых относятся препараты женьшеня, элеутерококка, родиолы и др. В спектре их фармакологической активности среди прочего показана способность ограничивать проявления психоэмоционального стресса у человека и животных [3, 11, 12, 13]. С целью расшифровки такого действия растительных адаптогенов в настоящей работе изучен вклад в его происхождение мозговой железы эпифиза, участвующего посредством основного гормона мелатонина в антистрессорной защите головного мозга [1, 2]. Для решения указанной задачи морфологические проявления антистрессорных свойств экстракта корней женьшеня и билобила были исследованы на животных с удалённым эпифизом, а также оценено их влияние на морфофункциональные характеристики клеточных элементов железы в сравнении с эффектами мелатонина.

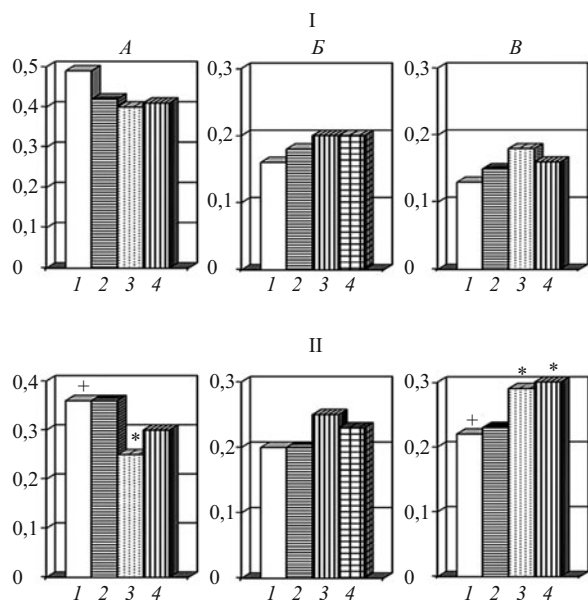
МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выполнено 2 серии опытов на 102 белых нелинейных крысах-самцах массой 200 – 220 г. Животные получены из ФГУП “Питомник лабораторных животных “Рапполово” РАМН (г. Рапполово Ленинградской обл.). В первой серии (72 крысы) исследовано влияние веществ на некоторые морфологические показатели хронического иммобилизационно-болевого стресса у интактных и эпифизэктомированных крыс, во второй (30 животных) определяли вызываемые ими сдвиги в состоянии эпифиза. В обеих сериях хронический стресс моделировали, помещая животных в тесную камеру с электрифицированным полом, где их ежедневно (в течение недели) на протяжении 10 мин (по 2 с с

интервалами 30 с) подвергали воздействию электрическим током (напряжение 90 В).

В первой серии морфологическими критериями стресса служили обусловленные им язвы в слизистой желудка, гипертрофия надпочечников и инволюция тимуса. Для исключения колебаний размеров желез в зависимости от массы тела всех животных подбирали с одинаковой массой (разница не более 20 г) и предварительно оценивали средний вес надпочечников и тимуса у интактных крыс данной популяции. Все животные были разделены на 2 равные группы — интактные и с удалённым эпифизом. Первая включала 4 подгруппы (по 6 особей): с внутрибрюшинным введением физиологического раствора (контроль), суспензии экстракта корней женьшеня (100 мг/кг, Гербион® Женьшень, Кгга, Словения, содержащий 21 мг гинзенозидов в 350 мг экстракта), препарата растения Гинкго билоба (50 мг/кг, “Билобил” производства той же фирмы, содержащий стандартизированный экстракт EGb 761, включающий 24 % флавоноидных гликозидов и 6 % терпеновых лактонов) и препарат эпифизарного гормона мелатонина мелаксен (0,1 мг/кг, фирмы Unipharm, США). Все вещества использовали каждый раз за 30 мин до стрессирования. Вторую группу животных подвергали оперативному вмешательству, подразделяя на 2 равные части. У одной половины из них под нембуталовым наркозом производили хирургическое удаление эпифиза — эпифизэктомию (ЭЭ) по модифицированной в нашей лаборатории методике [5], у второй половины использовали ложную операцию (разрез кожи на черепе с трепанацией теменных костей без удаления железы). Каждая группа прооперированных животных, в свою очередь, состояла из 4 подгрупп с введением физиологического раствора и адаптогенных препаратов, как указывалось выше. После окончания опытов животных забивали под эфирным наркозом и на торсионных весах (ВТ-500) определяли массу тимуса и надпочечников, площадь язвенной по-

¹ Ставропольский государственный медицинский университет, 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310.



Гистохимические и морфометрические изменения в эпифизе после введения адаптогенных средств intactным (I) и стрессированным (II) крысам:

A — содержание гликогена, B — уровень РНК (мВ), B — ядерно-цитоплазматическое соотношение; 1 — intactные крысы, 2 — введение физиологического раствора, 3 — введение экстракта корней женьшеня, 4 — введение билобила.

* Статистически значимые отличия при сравнении с контролем (2). + Сопоставление результатов до и после стресса.

верхности в желудке оценивали в мм² с помощью сетки.

Во второй серии экспериментов исследовали влияние стресса и веществ на морфофункциональные характеристики клеток эпифиза (пинеалоцитов). Все животные были разделены на 5 подгрупп (по 6 особей в каждой): intactные, стрессированные, подвергавшиеся стрессу с одновременным введением физиологического раствора, женьшеня и билобила. После окончания последнего сеанса экспериментального стресса у крыс под эфирным наркозом извлекали эпифиз. После фиксации (3 сут в формалине и 3 ч в жидкости Карнуа) мозговую ткань обезвоживали в батарее спиртов и ксилоле, заливали парафином и изготавливали срезы (толщиной 6–8 мкм), которые окрашивали на гликоген шифф-йодной кислотой [6], на РНК [9] и по Нисслию [8]. Уровень гликогена и РНК определяли с помощью микроскопа (“Люман И-2”), усреднённые значения оптической плотности вычисляли на основании фотометрирования 30 пинеалоцитов. Кроме того, в срезах, окрашенных по Нисслию, с помощью окулярной линейки оценивали площади ядра и цитоплазмы клеток с последующим расчётом ядерно-цитоплазматического соотношения [7].

Животных содержали в условиях вивария при естественном освещении со свободным доступом к пище и воде. Эксперименты производили в светлое время суток (с 16 до 18 ч). Оперативные вмешательства производили с соблюдением международных требований к

их проведению (GLP) и положений Этического комитета Ставропольского государственного медицинского университета. Полученные результаты подвергнуты статистической обработке с использованием пакета компьютерных программ (Statistica 6.0, MS Office 2010).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние удаления эпифиза на антистрессорные свойства адаптогенных средств. В соответствии с литературными данными субхронический стресс вызывал у животных инволюцию тимуса, повышение массы надпочечников, а также в 80 % случаев язвенное поражение слизистой оболочки желудка (таблица). По морфологическим критериям изученные препараты растительных адаптогенов в целом обнаруживали антистрессорную активность, выраженность которой со стороны разных показателей была неодинаковой. Если под влиянием экстракта женьшеня значительно уменьшалось стрессорное падение массы вилочковой железы (на $16,4 \pm 1,8$ %, $p < 0,05$), то билобил заметнее ограничивал развитие язвенного процесса (с $8,5 \pm 1,5$ мм² до $5,0 \pm 1,0$ мм², $p < 0,05$), тогда как по другим критериям в обоих случаях отмечалась лишь тенденция к нормализации исследованных показателей. Более универсальное стресс-протекторное действие обнаружено у препарата эпифизарного гормона мелатонина. Он достоверно ослаблял инволюционные изменения в тимусе (на $28,0 \pm 2,0$ %, $p < 0,05$) и гипертрофию надпочечников (на $29,9 \pm 2,5$ %, $p < 0,05$), заметнее ограничивал стрессорное повреждение слизистой оболочки желудка. Последние отсутствовали у половины животных в группе, а у остальных были представлены единичным дефектом (размером 2–3 мм²) (таблица).

Ложная операция в качестве контроля истинной ЭЭ заметно не сказывалась на выраженности морфологических проявлений стресса, тогда как они отчётливо нарастали после удаления эпифиза (таблица). Это проявлялось в более выраженном снижении массы тимуса (на $17,7 \pm 3,0$ %, $p < 0,05$) и более значительной гипертрофии надпочечников (на $11,1 \pm 1,8$ %), по сравнению с показателями у ложнооперированных крыс, было сильнее выражено и язвенное поражение слизистой оболочки желудка. На фоне ЭЭ стресс-протекторная активность растительных препаратов практически не проявлялась при некотором сохранении защитного эффекта мелатонина, продолжавшим значимо ограничивать язвенные поражения в желудке.

Влияние адаптогенных средств на морфофункциональные характеристики эпифиза крыс при экспериментальном стрессе. Для эпифизарной ткани нормальных крыс характерен определённый полиморфизм клеточных элементов, а также вариации в уровне метаболитов и ядерно-цитоплазматического соотношения. После контрольных инъекций intactным жи-

вотным физиологического раствора существенных изменений в функциональном состоянии железы обнаружить не удалось, можно было лишь отметить тенденцию к её некоторой активации, судя по незначительному снижению уровня гликогена, повышению содержания РНК и росту ядерно-цитоплазматического соотношения. Очевидно, речь может идти о своеобразной реакции на инъекционный стресс. Исследованные растительные препараты лишь подчёркивали данную тенденцию, не вызывая значимых сдвигов (рисунок).

В соответствии с наблюдениями других исследователей [10] в наших опытах хронический болевой стресс провоцировал отчётливые изменения эпифизарной активности. Это, в первую очередь, касалось состояния интактных крыс, у которых в пинеалоцитах достоверно падал уровень гликогена (на $33,7 \pm 3,5\%$, $p < 0,05$) и росло ядерно-цитоплазматическое соотношение (на $49,0 \pm 2,8\%$, $p < 0,01$). Такого рода изменения, вероятно, указывают на активацию железы и повышение секреторных процессов в её клетках в условиях стрессирования. Мобилизация эпифиза нарастала под действием женьшеня и билобила, причём последний уступал женьшеню по эффективности (рисунок).

Полученные факты подтверждают существование у некоторых растительных адаптогенов антистрессорных свойств, которые являются составным элементом их влияния на процессы адаптации. В то же время представленные результаты свидетельствуют о зависимости указанных свойств растительных адаптогенов от деятельности эпифиза. Доказательством, с одной стороны, служит ослабление защитного эффекта веществ после ЭЭ, а с другой — способность растительных адаптогенов модулировать функцию пинеалоцитов, усиленную при стрессе. Тем самым, есть достаточно оснований, чтобы рассматривать железу в качестве мозгового образования, посредством основного гормона мелатонина ответственного за некоторые аспекты фармакологической адаптации, вызываемой растительными адаптогенами. Между тем проведённый нами ранее анализ литературы [4] позволяет ставить вопрос о придании мелатонину статуса универсального естественного адаптогена. В самом деле, согласно многочисленным результатам экспериментальных исследований, с помощью эпифизарного гормона обеспечивается успешное приспособление всего организма в целом и отдельных его систем (центральной нервной, сердечно-сосудистой, иммунной и др.) к разного рода неблагоприятным экзогенным и эндогенным воздействиям. Отсюда полученные данные, расширяя диапазон лечебных возможностей растительных адаптогенов, дают право рекомендовать их более активное внедрение в клиническую практику.

Влияние адаптогенных средств на морфологические маркеры стресса у крыс ($M \pm m$)

Группа	Масса тимуса, мг	Масса надпочечников, мг	Язвенные поражения желудка, мм ²
Исходные данные	240,0 ± 10,8	25,0 ± 3,0	—
Интактные животные			
Физиологический раствор	168,0 ± 6,3	37,0 ± 5,0	8,5 ± 1,5
Женьшень	195,5 ± 6,2*	30,0 ± 4,5	6,8 ± 2,0
Билобил	188,0 ± 7,0	31,5 ± 3,5	5,0 ± 1,0*
Мелатонин	215,0 ± 7,5*	26,0 ± 3,0*	2,8 ± 1,0*
Ложнооперированные животные			
Физиологический раствор	164,5 ± 7,8	40,5 ± 5,5	9,5 ± 1,8
Женьшень	200,8 ± 6,6*	35,0 ± 4,2	7,2 ± 1,6
Билобил	182 ± 8,0	32,5 ± 4,0	6,2 ± 1,2*
Мелатонин	220,0 ± 9,5*	29,5 ± 3,5*	3,0 ± 0,7*
Эпифизэктомированные животные			
Физиологический раствор	135,0 ± 9,2	45,0 ± 6,0	12,5 ± 2,5
Женьшень	145,0 ± 8,5	43,0 ± 5,5	11,5 ± 1,8
Билобил	137, ± 7,5	40,0 ± 5,0	12,0 ± 2,0
Мелатонин	150,0 ± 9,5	35,0 ± 5,0	6,2 ± 1,5*

* Статистически значимые отличия ($p < 0,05$) при сравнении с контрольной группой (физиологический раствор).

ВЫВОДЫ

1. После хирургического удаления эпифиза у крыс ослабляется способность препаратов растительных адаптогенов (экстракта корня женьшеня и билобила) ограничивать морфологические проявления хронического стресса в виде падения массы тимуса, гипертрофии надпочечников и изъязвления слизистой оболочки желудка. Эпифизарный гормон мелатонин по антистрессорной активности превосходит указанные вещества.

2. Стрессирование животных сопровождается активацией эпифиза, судя по снижению в его клетках гликогена, увеличению уровня РНК и росту ядерно-цитоплазматического соотношения. Под влиянием препаратов растений усиливаются признаки повышения секреторной активности железы. По-видимому, её мобилизация участвует в обеспечении их антистрессорных и адаптогенных свойств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. Б. Арушанян, *Уникальный мелатонин*, Ставрополь (2007), 400 с.
2. Э. Б. Арушанян, *Мелатонин в норме и патологии*, Медпрактика, Москва (2004), сс. 198 – 222.
3. Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер, *Растительные адаптогены*, Ставрополь (2009).
4. Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер, *Успехи физиол. наук*, **43**(3), 83 – 100 (2012).
5. К. Б. Ованесов, *Актуальные проблемы хирургии*, Ставрополь, 173 – 175 (1987).

6. Э. Пирс, *Гистохимия*, Медицина, Москва (1962).
7. И. Д. Реук, А. В. Пешков, *Архив патол.*, **78**(7), 75 – 77 (1976).
8. Б. Б. Фукс, *Принципы и методы гисто-цитохимического анализа в патологии*, Ленинград (1971), сс. 298 – 335.
9. J. Brachet, *J. Microscop. Science*, **94**(1), 1 – 10 (1953).
10. R. Couto-Morales, J. Palermo-Neto, R. P. Markeos, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1153**, 193 – 202 (2009).
11. T. Konishi, *Neurochem. Res.*, **34**, 711 – 716 (2009).
12. S. H. Lee, J. Hur, E. H. Lee, *Biomol. Ther.*, **20**, 482 – 486 (2012).
13. S. M. Talbott, J. A. Talbott, A. George, *J. Int. Soc. Sports Nutr.*, **10**, 28 – 30 (2013).

Поступила 04.12.14

PARTICIPATION OF PINEAL GLAND IN ANTISTRESSOR ACTIVITY OF ADAPTOGENIC DRUGS

E. B. Arushanyan, E. V. Beier

Department of Pharmacology, Stavropol State Medical Academy, ul. Mira 310, Stavropol, 355017 Russia

Chronic stress produces some morphological changes in rats, including thymus weight reduction, adrenal hypertrophy, and peptic ulcers in stomach. Repeated administration of phytoadaptogenic drugs (ginseng and bilobil) decreased these stress-induced disorders. The antistressor activity of drugs was attenuated upon by removal of the pineal gland. Histochemical and morphometric investigation of pineal tissues in stressed animals showed that that the pharmacological effect was accompanied by increasing functional activity of the pineal gland. It is suggested that pineal mobilization may participate in antistressor activity of phytoadaptogenic drugs.

Keywords: adaptogenic phytopreparations; pineal gland; stress