

Фитоэстрогены — корректоры вазомоторных и психоэмоциональных реакций при экспериментальной овариэктомии

Плотникова Т.М.¹, Васильева Н.В.¹, Анищенко А.М.²

Phytoestrogens are the correctors of vasomotor and psychoemotional reactions after experimental ovariectomy

Plotnikova T.M., Vasiliyeva N.V., Anishchenko A.M.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² НИИ фармакологии СО РАМН, г. Томск

© Плотникова Т.М., Васильева Н.В., Анищенко А.М.

Изучено влияние экстракта мааки амурской (200 мг/кг массы тела внутривенно в течение 14 сут) на вазомоторные и психоэмоциональные реакции крыс после овариэктомии. Экстракт мааки амурской не изменял уровня половых гормонов в крови, проявлял противотревожную активность при моделях тревоги, существенно не влиял на общую двигательную активность в тесте «открытое поле». Кроме того, экстракт мааки амурской уменьшал выраженность патологических вазомоторных реакций, проявляющихся изменением реакции сосудов на вазоактивные агенты и приливами жара.

Ключевые слова: экстракт мааки амурской, овариэктомия, модели тревожных расстройств, противотревожный эффект, вазомоторные реакции.

The effects of *Maackia amurensis* extract (200 mg/kg, p.o. during the 14 days) on the vasomotor and psychoemotional reactions in rats after ovariectomy were investigated. The *Maackia amurensis* extract did not change the blood level of sex hormones, showed anxiolytic activity with the models of anxious disorders, did not influence considerably on the motor activity in «open field» test. *Maackia amurensis* extract reduced the pathological vasomotor reactions, showing by the change in vessels reactions on vasoactive agents and «hot flushes».

Key words: *Maackia amurensis* extract, ovariectomy, models of anxious disorders, anxiolytic effect, vasomotor reactions.

УДК 577.175.19:615.256.51:618.11-089.87-06:616.8-009.86

Введение

Климактерический период у женщин является переходной ступенью от репродуктивного периода к старости и характеризуется гормональными сдвигами, связанными со старением яичников [5]. Снижение уровня циркулирующих в крови эстрогенов становится у большинства женщин пусковым механизмом для развития вегетативных и психоэмоциональных симптомов, ухудшающих качество жизни. Для лечения синдрома дефицита эстрогенов при естественной или хирургической менопаузе применяют гормональную заместительную терапию. Отмечен ее положительный эффект в отношении как вегетососудистых расстройств, так и гиперлипидемии, остеопороза и других метаболических нарушений [5, 6]. Вместе с тем длительное применение гормональной заместительной терапии вызывает нежелательные эффекты — нарушения функций печени, гемостаза, повышенный риск опухолевого роста. Большие

надежды специалисты возлагают на применение избирательных модуляторов эстрогеновых рецепторов, которые, оказывая гормоноподобное влияние, лишены побочных эффектов гормонов. Модуляторами активности эстрогеновых рецепторов могут быть изофлавоноиды, выделенные из растений [2, 9]. Наибольший интерес представляет маакия амурская — приморское эндемичное растение семейства бобовых. Полифенольный комплекс из древесины мааки амурской (*Maackia amurensis* Rupr. Et. Maxim) был зарегистрирован в 2004 г. в Российской Федерации в качестве субстанции для изготовления лекарственных средств (Р № 003309/01). Высокое содержание изофлавоноидов [7, 10] явилось основанием для изучения эффектов экстракта из древесины мааки амурской при гипоэстрогемии.

Цель исследования — изучение влияния экстракта из древесины мааки амурской на поведенческие и вазомоторные реакции у крыс с недостаточностью половых гормонов, вызванной овариэктомией.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на 76 самках крыс линии Вистар массой 350—380 г в соответствии с рекомендациями «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств» [4]. Животных содержали в виварии НИИ фармакологии СО РАМН при естественном освещении, свободном доступе к воде и пище. В работе использовали стандартизованную субстанцию — сухой экстракт из ядровой древесины мааки амурской (ЭМА), в состав которого входят изофлавоноиды, мономерные и димерные стильбены. По данным высокоэффективной жидкостной хроматографии содержание полифенолов в экстракте составляет 21,6%, из них изофлавоноидов — 12,7%, стильбенов — 8,9%.

Под эфирным наркозом проводили овариэктомию или лапаротомию без удаления яичников (ложнооперированные животные). После овариэктомии крысам вводили в желудок ежедневно ЭМА в дозе 200 мг/кг массы тела в виде взвеси в 1%-й крахмальной слизи в течение 14 сут начиная с 7-х сут после операции. В этой дозе ЭМА наиболее значительно уменьшает вязкость крови в экспериментах *ex vivo* [3].

Животные контрольной группы после овариэктомии получали эквивалентное количество 1%-й крахмальной слизи. Последнее введение ЭМА или крахмальной слизи осуществляли за 2 ч до исследования. Содержание прогестерона и эстрадиола в пробах крови определяли иммуноферментным методом с помощью наборов «Прогестерон ИФА» и «Эстрадиол ИФА» («Хема-Медика», Россия) на приборе для иммуноферментного анализа «Пикон» (Россия).

Влияние ЭМА на двигательную активность и ориентировочно-исследовательское поведение крыс изучали в экспериментальных установках «открытое поле» и «светлая — темная камера» [4]. «Открытое поле» представляет собой камеру с полом, разделенным на квадраты, с отверстиями диаметром 2 см. Крыс помещали в один из углов «открытого поля» и на протяжении 3 мин регистрировали количество перемещений с квадрата на квадрат (горизонтальная активность), вставаний на задние лапки (вертикальная активность), обследований отверстий (норковый рефлекс), умываний (груминг) и актов дефекации. В установке «светлая — темная камера» животное помещали в ярко освещенный отсек и в течение 3 мин регистрировали число переходов между светлым и темным отсеками, а также

длительность пребывания в них. Вазомоторные реакции оценивали с помощью функциональных проб и измерением температуры кожи на середине хвоста лазерным измерителем температуры ИТ301А. На 21-е сут от начала эксперимента под наркозом (тиопентал натрия, 50 мг/кг массы тела) катетеризовали сонную артерию для регистрации системного артериального давления (САД) до и после болюсного введения в бедренную вену 0,1 мл растворов ацетилхолина (5 мкг/кг массы тела) и эпинефрина (50 мкг/кг массы тела).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0 for Windows. Результаты представлены в виде среднего значения M и стандартной ошибки среднего значения m . Нормальность распределения показателей оценивали с использованием W -критерия Шапиро—Уилки. Межгрупповые отличия оценивали непараметрическим U -критерием Манна—Уитни. Для попарно связанных групп применяли непараметрический критерий Вилкоксона.

Результаты и обсуждение

Для изучения гормонального статуса ложнооперированных крыс забор крови осуществляли в фазе эструса. Овариэктомия (контроль) приводила к исчезновению половых циклов у крыс. Клеточный состав в мазках влагалищной жидкости в контроле и у животных, получавших ЭМА, соответствовал стадии диэструса (сплошь лейкоциты и единичные эпителиальные клетки) [1]. Уровень эстрадиола и прогестерона в крови ложнооперированных крыс составлял соответственно $(43,8 \pm 1,3)$ пг/мл и $(65,8 \pm 6,4)$ нмоль/л. В крови контрольных крыс, получавших крахмальную слизь, к 21-м сут после овариэктомии содержание эстрадиола и прогестерона снижалось на 60 и 65% соответственно. У овариэктомированных животных, получавших в течение 14 сут ЭМА, уровни эстрадиола и прогестерона были ниже соответствующих показателей ложнооперированных животных в среднем на 54 и 67%. Содержание гормонов у животных, подвергнутых овариэктомии, и крыс, получавших после операции ЭМА, значимо не различалось. Следовательно, ЭМА не устранял вызванный овариэктомией дефицит половых гормонов.

Исследование нейропсихических нарушений у самок крыс при экспериментальной овариэктомии позволило установить, что низкий уровень половых гормонов в крови формировал пассивный тип поведения в тесте

«открытое поле» с уменьшением ориентировочно-исследовательской активности и повышением тревожности. Латентный период (время выхода животного из первого квадрата) увеличивался вдвое, суммарная двигательная активность и число горизонтальных перемещений уменьшались в 2,7–3 раза, показатель норкового рефлекса и число вертикальных стоек — в 2 раза, количество болюсов увеличилось в 5 раз по сравнению со значениями у ложноперирированных животных (табл. 1). Повышенная тревожность овариэктомированных крыс регистрировалась при оценке времени их пребывания в светлом и темном отсеках камеры. Длительность пребывания крыс в светлом отсеке снижалась на 62% по сравнению с продолжительностью у ложноперирированных животных.

Таблица 1

Влияние экстракта мааки амурской на ориентировочно-исследовательское поведение крыс в «открытом поле» (баллы) и время нахождения в светлой камере ($M \pm m$)

Группа животных	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Норковый рефлекс	Грумминг	Дефекация	Латентный период выхода из первого квадрата, с	Время нахождения в светлой камере, с
Ложноперирированные крысы	44 ± 4	6 ± 1	8 ± 2	2 ± 1	1 ± 1	5 ± 1	13 ± 2
Овариэктомия	14 ± 2*	3 ± 1*	4 ± 1*	1 ± 1	5 ± 1*	11 ± 2*	8 ± 1*
ЭМА	16 ± 3*	3 ± 1*	4 ± 1*	1 ± 1	3 ± 1* ⁺	8 ± 2 ⁺	14 ± 2 ⁺

Примечание. Здесь и в табл. 2. * — $p < 0,05$ по сравнению с ложноперирированными животными; ⁺ — $p < 0,05$ по сравнению с овариэктомированными животными. Представлены средние данные шести определений.

Курсовое введение ЭМА крысам после овариэктомии не оказывало существенного влияния на ориентировочно-исследовательскую активность: сохранялось выраженное снижение общего числа локомоторных актов, в том числе горизонтальных перемещений, вертикальных стоек и числа обследованных отверстий (норковый рефлекс) по сравнению с показателями у ложноперирированных крыс. Вместе с тем ЭМА, подобно другим фитоэстрогенам [11], достоверно уменьшал симптомы тревоги в условиях стресса

новизны, о чем свидетельствовало повышение на 75% продолжительности нахождения крыс в светлом отсеке камеры, уменьшение на 25% времени выхода животных из первого квадрата в тесте «открытое поле» и на 40% количества болюсов по сравнению с поведенческими реакциями при овариэктомии (табл. 1). Следовательно, ЭМА при курсовом введении крысам после овариэктомии, существенно не влияя на двигательную активность, снижал проявления экспериментальных тревоги и страха.

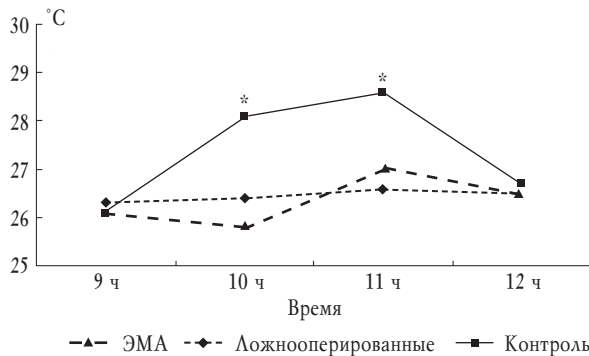
При изучении с помощью функциональных проб вазомоторных реакций, сопровождающих экспериментальный постовариэктомический синдром, было установлено, что на 21-е сут после удаления яичников возникало меньшее (на 7%) снижение САД в ответ на введение ацетилхолина и большее (на 16%) повышение САД при внутривенном введении эpineфрина по сравнению с реакцией на вазоактивные агенты у ложноперирированных животных (табл. 2). Изменение реакции сосудов, вероятно, обусловлено эндотелиальной дисфункцией [3], вызывающей дисбаланс между двумя наиболее важными вазоактивными веществами, продуцируемыми эндотелием, — вазодилататором оксидом азота и вазоконстриктором эндотелином-1 в пользу последнего. ЭМА не влиял на уровень САД крыс после овариэктомии, но восстанавливал реакции сосудов на внутривенное введение ацетилхолина (АХ) и эpineфрина. Нормализация вазомоторных реакций под влиянием курсового введения ЭМА обусловлена его эндотелийпротективной активностью при гипозестрогемии [3] и в результате этого восстановления баланса между продуцируемыми эндотелием вазоактивными агентами.

Таблица 2

Влияние экстракта мааки амурской на системное артериальное давление при внутривенном введении ацетилхолина (5 мкг/кг массы тела) и эpineфрина (50 мкг/кг массы тела) крысам после овариэктомии ($M \pm m$)

Группа животных	Исходные значения САД, мм рт. ст.	Изменения САД после введения ацетилхолина, мм рт. ст.	Изменения САД после введения эpineфрина, мм рт. ст.
Ложноперирированные	128 ± 4	-54 ± 1	+31 ± 2
Овариэктомия	124 ± 2	-50 ± 1*	+36 ± 2*
ЭМА	125 ± 3	-55 ± 1 ⁺	+30 ± 2 ⁺

Изменения температуры, измеренной на коже середины хвоста крыс после овариэктомии, в эксперименте являются эквивалентом приливов жара у женщин с климактерическим синдромом [8]. У ложнооперированных животных температура кожи в период с 09.00 до 12.00 не изменялась. У овариэктомированных животных температура повышалась на 8% к 10.00 и 11.00 и снижалась до исходного уровня к 12.00. Данные температурные скачки оценивали как приливы жара. У крыс, получавших ЭМА, температура была постоянной на всем протяжении эксперимента (рисунок). Следовательно, ЭМА способствовал нормализации вазомоторных реакций овариэктомированных крыс.



Влияние экстракта мааки амурской на температуру кожи хвоста у крыс после овариэктомии. * — $p < 0,05$ по сравнению с ложнооперированными животными

Заключение

Овариэктомия приводила к исчезновению половых циклов у крыс, вызывала снижение содержания в крови эстрадиола и прогестерона, усиливала страх и тревогу, нарушала вазомоторные реакции с изменением ответа сосудов на вазоактивные агенты и приливами жара.

Экстракт мааки амурской при курсовом введении в желудок в дозе 200 мг/кг массы тела, не влияя на уровень половых гормонов, проявлял противотревожную активность и нормализовал вазомоторные реакции у овариэктомированных животных.

Литература

1. Гольдштейн Д.В., Вихлянцева Е.В., Сахарова Н.К. и др. Гистологический метод оценки эффективности препарата «Энерлит-Клима» // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2004. Т. 138, № 8. С. 233–234.
2. Никитин А.И. Фитоэстрогены // Проблемы репродукции. 2000. № 3. С. 12–20.
3. Плотникова А.М., Шульгау З.Т., Плотникова Т.М. и др. Антитромбогенная и антитромбоцитарная активность экстракта из древесины мааки амурской // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2009. Т. 147, № 2. С. 164–167.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств / Под ред. Р.У. Хабриева М.: Медицина. 2005. 832 с.
5. Сметник В.П. Климактерические расстройства и методы их коррекции // Consilium medicum. 2007. Т. 9, № 6. С. 65–70.
6. Тихомиров А.А. Заместительная гормональная терапия в физиологической и хирургической постменопаузе // Фарматека. 2007. № 10. С. 37–41.
7. Федорев С.А., Кулеш Н.И., Глебо А.И. и др. Препарат максар из дальневосточного растения мааки амурской // Хим.-фарм. журн. 2004. Т. 38, № 11. С. 80–84.
8. Bove J., Li X.F., Kinsey-Jones J, et al. The hot phytoestrogen, 8-prenylnaringenin, reverses the ovariectomy-induced rise in skin temperature in an animal model of menopausal hot flashes // J. Endocrinol. 2006. V. 191, № 2. P. 399–405.
9. Cappelletti V., Miodini P., Fronso G., Daidone M.G. Modulation of estrogen-beta isoforms by phytoestrogens in breast cancer cells // Int. J. Oncol. 2006. V. 28, № 5. P. 1185–1191.
10. Fedoreyev S.A., Pokushalova T.V., Veselova M.V. et al. Isoflavonoid production by callus cultures of *Maackia amurensis* // Fitoterapia. 2000. V. 71, № 2. P. 365–372.
11. Walf A.A., Frye C.A. ERbeta-selective estrogen receptor modulators produce antianxiety behavior when administered systemically to ovariectomized rats // Neuropsychopharmacol. 2005. V. 30, № 9. P. 1288–1301.

Поступила в редакцию 30.04.2011 г.

Утверждена к печати 01.06.2011 г.

Сведения об авторах

Т.М. Плотникова — д-р биол. наук, профессор кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

Н.В. Васильева — аспирант кафедры фармакологии СибГМУ (г. Томск).

А.М. Анищенко — науч. сотрудник лаборатории кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

Для корреспонденции:

Плотникова Татьяна Макаровна, e-mail: mbp2001@mail.ru