

УДК 612.172.2

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЛОТОСА ОРЕХОНОСНОГО НА ПОВЕДЕНЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И СЕРДЕЧНЫЙ РИТМ НЕЛИНЕЙНЫХ КРЫС

© 2014 Е.В. Курьянова, Ю.Д. Жукова, Н.В. Жуковина

Астраханский государственный университет

Поступила в редакцию 06.10.2014

Введение экстракта семян лотоса орехоносного *Nelumbo nucifera* (50 мг/кг массы тела) в течение 14 дней может оказывать влияние на поведение и вариабельность сердечного ритма (ВСР) нелинейных крыс. На фоне приема экстракта снижаются показатели ориентировочно-исследовательского поведения, повышается напряженность сердечного ритма у животных обоих полов, у самцов также повышается частота сердечных сокращений. По сравнению с контролем изменения показателей поведения и ВСР в основном несут несущественный, по-видимому, носят неспецифический характер.

Ключевые слова: *ориентировочно-исследовательское поведение, тест «открытое поле», вариабельность, сердечный ритм, экстракт, лотос орехоносный (Nelumbo nucifera)*

Изучение терапевтического действия растительных препаратов никогда не потеряет своей актуальности в связи с рядом преимуществ, таких как, меньшее число побочных эффектов, мягкость воздействия, относительная доступность. Многие растительные препараты характеризуются комплексным влиянием на организм. К числу таких относятся препараты на основе экстрактов лотоса орехоносного (*Nelumbo nucifera*). Ряд научных работ свидетельствуют о влияниях экстрактов лотоса и их компонентов на нервную систему, поведение, ионную проводимость клеток и др. [7, 12, 13, 15]. В тоже время отмечается недостаток данных об эффектах в отношении регуляции сердечного ритма. Очевидно, что такие сведения могут иметь существенное значение для решения вопроса о рекомендации к приему препаратов на основе лотоса орехоносного.

Цель работы: анализ возможных эффектов экстракта семян лотоса орехоносного на ориентировочно-исследовательское поведение и вариабельность сердечного ритма нелинейных крыс.

Материал и методы исследования. Эксперименты проведены на самцах и самках нелинейных крыс средней массой 217 г и 247 г соответственно, при соблюдении «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г.

№755). Опытным животным вводили экстракт семян лотоса орехоносного в дозе 50 мг/кг м. т. внутривенно с помощью зонда в течение 14 дней. Экстракт получали водно-спиртовой экстракцией измельченных зрелых семян в соответствии с протоколом WHO CG-04. После отгонки спиртовой фазы 5%-й остаток вязкого смолообразного вещества разводили физиологическим раствором. Контрольным животным вводили физиологический раствор (0,5 мл/ кг м. т.) по той же схеме.

Ориентировочно-исследовательское поведение (ОИП) изучали в тесте «открытое поле» [2]. Время экспозиции каждой особи составляло 2 минуты. Животные тестировались до начала и после завершения введения препаратов. Фиксировали число пересеченных периферических квадратов (ПКв) и центральных квадратов (ЦКв), число вертикальных стоек на периферии (ПСт) и в центре поля (ЦСт), число заглядываний в «норки». Рассчитывали основную поведенческую активность – ОПА, как сумму числа пересеченных квадратов и числа стоек на периферии и в центре поля.

ЭКГ регистрировали у бодрствующих нефиксированных животных на аппаратно-программном комплексе «Варикард» («Рамена», Россия) по методике [4, 5]. Данные обрабатывали в компьютерной программе «ИСКИМ6» («Рамена», Россия) на отрезках ЭКГ из 300 интервалов R-R. Рассчитывали частоту сердечных сокращений (ЧСС), индекс напряжения на основе формулы Баевского [1] при ширине класса гистограммы 7,8 мс:

Курьянова Евгения Владимировна, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии и морфологии человека и животных. E-mail: fyzevk@rambler.ru

Жукова Юлия Дмитриевна, магистрант

Жуковина Нина Владимировна, магистрант

$$ИН=(50/7,8)*(АМо/(2*Мо*\Delta X))*1000,$$

где SD (мс) – среднее квадратическое отклонение кардиоинтервалов, RMSSD (мс) – квадратный корень из суммы квадратов разности величин последовательных пар RR-интервалов, абсолютную мощность волн в диапазонах: HF (0,9-3,5 Гц), LF (0,32-0,9 Гц), VLF (0,17-0,32 Гц), индекс централизации IC ($IC=(LF+VLF)/HF$). ВСП анализировали до начала введения и через 1 ч после последнего введения препаратов. Результаты обработаны с использованием t-теста в программе Biostat 4.03.

Результаты исследования и их обсуждение. Перед началом введения препаратов животные контрольной и опытной групп демонстрировали высокую двигательную и исследовательскую активность в «открытом поле». В соответствии с предложенной ранее схемой ранжирования животных по основной поведенческой активности [6], среди самцов 39% особей имели высокую ОПА (> 30 ед.), 39% - среднюю ОПА (от 21 до 30 ед.) и только 22% – низкую ОПА (< 20 ед.), а среди самок все особи (100%) проявляли высокую поведенческую активность

(ОПА > 30 ед.). Число болюсов, которое многие авторы рассматривают как показатель вегетативного баланса, мы не учитывали, так как их давали только единичные особи.

Повторное тестирование поведения по завершении введения экстракта семян лотоса и физиологического раствора выявило снижение ориентировочно-исследовательской активности животных, как в опыте, так и в контроле. Из самцов ни одна особь не проявила высоких показателей ОПА, среди самок сохранили высокую ОПА только 17% особей, в основном животные демонстрировали среднюю или низкую активность в «открытом поле». По сравнению с исходными данными, у крыс, получивших экстракт семян лотоса, в наибольшей степени изменилось количество пересеченных квадратов в центре поля (ЦКв) (почти вдвое, $p<0,01$ - $p<0,001$), число стоек (в 1,5-2 раза, $p<0,05$ - $p<0,01$) и норки (в 2 раза, $p<0,01$ - $p<0,001$) (табл. 1). Однако фактические значения поведенческих показателей в опыте существенно не отличались от контроля.

Таблица 1. Параметры ориентировочно-исследовательского поведения самцов и самок нелинейных крыс, получавших и не получавших экстракт семян лотоса орехоносного

	Контроль			Экстракт семян лотоса орехоносного		
	пол животных (n)	до введения	после введения	пол животных (n)	до введения	после введения
ОПА, шт.	самцы (4)	24,0±5,9	14,5±3,9	самцы (14)	27,6±2,6	19,5±3,0 *
	самки (4)	30,5±5,5	17,0±2,5	самки (15)	38,8±2,1	23,3±2,0 ***
ПКв, шт.	самцы (4)	13,5±3,5	9,3±3,5	самцы (14)	14,8±1,1	10,1±1,2
	самки (4)	17,3±3,6	12,3±2,2	самки (15)	23,4±1,4	15,8±1,4 **
ЦКв, шт.	самцы (4)	6,0±2,1	3,8±1,3	самцы (14)	7,5±0,8	3,9±0,7 **
	самки (4)	9,0±1,9	3,5±0,2 *	самки (15)	9,5±0,9	4,8±0,9 ***
ПСт, шт.	самцы (4)	4,5±1,9	1,5±0,9	самцы (14)	4,9±0,6	3,3±0,5 *
	самки (4)	4,3±1,7	1,3±0,5	самки (15)	5,8±0,4	2,7±0,5 ***
ЦСт, шт.	самцы (4)	0,0±0,0	0,0±0,0	самцы (14)	0,5±0,2	0,2±0,1
	самки (4)	0,0±0,0	0,0±0,0	самки (15)	0,1±0,06	0,0±0,0
норки, шт.	самцы (4)	5,7±2,6	4,8±2,2	самцы (14)	5,8±0,6	2,8±0,6 **
	самки (4)	4,8±1,1	2,3±0,7	самки (15)	9,0±0,8	4,9±1,1 ***

Корреляционные связи между параметрами ОИП крыс в исходном состоянии были в основном слабые, существенными были корреляции между ОПА и ПКв ($r=0,78$, $p<0,01$), ЦКв ($r=0,71$, $p<0,01$), ПСт ($r=0,83$, $p<0,01$), числом норки ($r=0,58$, $p<0,05$). После введения экстракта семян лотоса структура корреляционных связей мало изменилась, но сила связей несколько ослабела. Такие подвижки в корреляционных отношениях, скорее всего, обусловлены снижением значений практически всех поведенческих показателей.

ЧСС самцов и самок крыс контрольной и опытной групп до начала введения препаратов

колебалась в пределах 330-365 уд/мин, что соответствовало состоянию спокойного бодрствования [4, 5]. В спектре ВСП доминировали HF-волны средней мощности. Значения показателей variability ритма (SD и RMSSD) и ИН находились в пределах, характерных для состояния вегетативного баланса [4]. После 14-дневного введения экстракта семян лотоса у самцов крыс ЧСС выросла на 8% ($p<0,01$), SD сократилось на 25% ($p<0,05$), RMSSD снизился на 37% ($p<0,001$), при этом ИН возрос на 54% ($p<0,05$) (табл. 2). Ригидность сердечного ритма определялась почти двукратным ослаблением мощности HF-волн ($p<0,01$), т.е. у самцов крыс,

получавших экстракт семян лотоса, отмечалось ослабление доминирующей роли автономного контура в формировании вариабельности кардиоинтервалов, что может свидетельствовать о повышении симпатoadренальных влияний, согласно [1]. Но поскольку у самцов, принимавших плацебо, наблюдались аналогичные, хотя и не столь существенные сдвиги ЧСС и ВСР (табл. 2), то изменения показателей ВСР у опытных самцов крыс следует рассматривать как неспецифические.

На фоне приема экстракта семян лотоса ЧСС самок крыс практически не изменилась, но SD снизилось (на 28%, $p < 0,05$), ИН увеличился (на 68%, $p < 0,01$) (табл. 2). Снижение вариабельности и рост напряженности сердечного ритма опытных самок, в отличие от самцов, определялось падением мощности волн LF ($p < 0,05$) и VLF ($p < 0,05$). В этом случае можно считать, что у самок крыс, получавших экстракт семян лотоса, отмечался рост напряженности сердечного ритма при значительном ослаблении активности центрального контура и тенденции к снижению влияний автономного контура регуляции.

Таблица 2. Показатели вариабельности сердечного ритма самцов и самок нелинейных крыс, получавших и не получавших экстракт семян лотоса орехоносного

	Контроль			Экстракт семян лотоса орехоносного		
	пол животных (n)	до введения	после введения	пол животных (n)	до введения	после введения
ЧСС, уд/мин	самцы (4)	349,8±14,4	386,3±24,6	самцы (14)	360,8±7,2	390,1±5,7 **
	самки (4)	356,8±19,2	363,3±20,4	самки (15)	361,0±8,4	372,3±5,7
RMSSD мс	самцы (4)	4,5±0,6	2,8±0,3 *	самцы (14)	4,6±0,4	2,9±0,2 ***
	самки (4)	4,3±0,7	5,3±1,4	самки (15)	3,6±0,3	3,0±0,2
SD, мс	самцы (4)	3,8±0,5	2,8±0,8	самцы (14)	5,1±0,4	3,9±0,3 *
	самки (4)	3,8±0,4	4,3±0,4	самки (15)	4,7±0,5	3,4±0,2 *
ИН, отн.ед.	самцы (4)	37,6±5,1	105,0±23,9 *	самцы (14)	46,5±4,9	71,6±9,5 *
	самки (4)	58,9±8,8	56,8±9,8	самки (15)	53,4±8,0	89,4±9,4 **
HF, мс ²	самцы (4)	4,2±1,0	1,8±0,4	самцы (14)	5,7±0,9	2,8±0,3 **
	самки (4)	5,1±1,7	4,0±1,2	самки (15)	3,8±0,7	2,4±0,3
LF, мс ²	самцы (4)	1,6±0,7	0,5±0,2	самцы (14)	2,0±0,5	2,0±0,6
	самки (4)	1,3±0,3	1,1±0,5	самки (15)	1,6±0,4	0,7±0,2 *
VLF, мс ²	самцы (4)	2,5±1,5	0,5±0,2	самцы (14)	1,5±0,5	1,6±0,5
	самки (4)	0,6±0,1	0,7±0,1	самки (15)	2,3±0,8	0,6±0,1 *
IC, отн.ед.	самцы (4)	1,5±1,1	0,6±0,2	самцы (14)	0,8±0,2	1,1±0,3
	самки (4)	0,6±0,2	0,6±0,2	самки (15)	1,4±0,6	0,6±0,06

Корреляционные связи между параметрами ВСР крыс в исходном состоянии были в основном сильные, их структура соответствовала описанным ранее зависимостям между ЧСС, показателями вариационной пульсометрии и спектрального анализа [4]. У самцов до и после введения экстракта ЧСС не коррелировала с показателями вариабельности ритма. У самок до введения препарата ЧСС была сопряжена с RMSSD и HF ($r = -0,68$, $p < 0,01$), ИН ($r = 0,60$, $p < 0,01$). После введения экстракта семян лотоса эти зависимости нивелировались. Корреляции между показателями вариабельности ритма сердца стали еще жестче, их коэффициенты приблизились к 0,90 и выше. Относительно корреляций между показателями поведения и ВСР можно отметить, что и у самцов, и у самок они весьма слабые. В исходном состоянии у самцов ЧСС не была существенно сопряжена ни с одним из показателей поведения, ОПА коррелировала только с ИН ($r = 0,60$, $p < 0,01$). У самок крыс ЧСС была сопряжена

с ОПА ($r = -0,45$, $p < 0,1$) и числом ЦКв ($r = -0,52$, $p < 0,05$). После введения экстракта и эти связи ослабели.

Согласно мнению многих авторов, поведение лабораторных животных в новой окружающей среде (открытом поле) определяется взаимодействием генетического фонда, предыдущего опыта, гормонального фона, качества сенсорного восприятия, свойств нервной системы [2, 9, 10]. Свойства нервной системы и поведение тесно связаны с активностью нейромедиаторных систем мозга [3, 9, 11]. Есть данные, что высокое количество побегов в открытом поле коррелирует с высокой активностью норадренергической системы [3, 11]. Напротив, серотонинергическая система мозга снижает уровень двигательной активности [14]. Для наших исследований особый интерес представляют данные, свидетельствующие о способности компонентов экстракта семян лотоса оказывать анксиолитический эффект [7]. Содержащийся в семенах лотоса

алкалоид неферин проявляет антидепрессивные свойства за счет повышения плотности 5-HT_{1A} рецепторов к серотонину, влияет на обмен серотонина и серотониновую трансмиссию в мозге [12, 15]. Эти данные позволяют предположить, что наблюдавшееся нами снижение параметров ориентировочно-исследовательского поведения крыс, получавших экстракт семян лотоса, может быть вызвано повышением активности серотонинергической системы мозга. Однако в настоящий момент сделать определенное заключение сложно, поскольку у животных, получавших плацебо, также наблюдалось некоторое снижение ориентировочно-исследовательской активности. Тем не менее, сделанное предположение определяет направление дальнейших исследований.

Результаты анализа ВСП контрольных и опытных крыс свидетельствуют о том, что введение экстракта семян лотоса может модулировать регуляторные влияния на сердце и приводить к повышению напряженности сердечного ритма. Согласно Р.М. Баевскому и соавт. [1], рост напряженности сердечного ритма может определяться усилением симпатических или снижением парасимпатических влияний. Вероятно, в нашем случае изменения ЧСР и ВСП самцов крыс, получавших экстракт семян лотоса, носят неспецифический характер, поскольку у крыс контрольной группы (особенно самцов) наблюдались аналогичные изменения сердечного ритма.

Несмотря на это обстоятельство, мы попытались предположить возможные причины роста ЧСС и напряженности сердечного ритма в опыте. Как показали некоторые исследования [13], основной алкалоид семян лотоса – неферин – снижает амплитуду потенциалов действия миокарда, угнетает медленные входящие Na⁺ и Ca²⁺-токи, что способствует снижению ЧСС. Вместе с тем, неферин влияет на обмен серотонина, способствует росту плотности 5-HT_{1A} рецепторов [12, 15]. Серотонинергическая система имеет периферическое звено, и рассматривается сейчас как один из отделов вегетативной нервной системы [8], эффекты которого могут быть синергичны эффектам симпатического отдела, особенно, если возникает некоторый дефицит симпатoadренальных влияний. Возможно, на начальных сроках введения экстракта имело место урежение ЧСС, что могло спровоцировать усиление симпатических и серотонинергических влияний. Это предположение требует проверки в дальнейших исследованиях.

Выводы:

1. Введение экстракта семян лотоса орехоносного в дозе 50 мг/кг м.т. в течение 14 дней

способно снизить ориентировочно-исследовательскую активность и вариабельность сердечного ритма лабораторных крыс, однако эти эффекты носят скорее неспецифический характер.

2. Изменения ВСП на фоне введения экстракта семян лотоса орехоносного имеют некоторые гендерные особенности: у представителей мужского пола сильнее выражен рост ЧСС и ИН при снижении активности автономного контура регуляции, у женских особей происходит рост ИН и снижение централизации управления ритмом сердца.

3. В результате введения экстракта семян лотоса усиления корреляций между показателями поведенческой активности и ВСП не наблюдается.

4. Результаты работы указывают на необходимость не только продолжения исследований эффектов экстракта семян лотоса, но и более внимательного отношения к дозированию и срокам введения средств на основе лотоса орехоносного, так как на его фоне возможно усиление ригидности сердечного ритма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Баевский, Р.М.* Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем: методические рекомендации / *Р.М. Баевский, Г.Г. Иванов, Л.В. Чирейкин и др.* // Вестник аритмологии. 2001. №24. С. 1-23.
2. *Буреш, Я.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / *Я. Буреш, О. Бурешова, Дж.П. Хьюстон.* – М., Изд-во «Высшая школа», 1991. 388 с.
3. *Исмайлова, Х.Ю.* Индивидуальные особенности поведения (моноаминергические механизмы) / *Х.Ю. Исмайлова, Т.М. Агаев, Т.П. Семенова.* – Баку, 2007. 228 с.
4. *Курьянова, Е.В.* К вопросу о применении спектральных и статистических параметров вариабельности сердечного ритма для оценки нейровегетативного состояния организма в эксперименте // Бюлл. СО РАМН. 2009. Т.140, №6. С. 30-37.
5. *Курьянова, Е.В.* Особенности типов регуляции сердечного ритма нелинейных крыс при длительном приеме α-токоферола // Известия Самарского научного центра РАН. 2011. Т.13, №1(7). С. 1729-1733.
6. *Курьянова, Е.В.* Половые и типологические различия поведенческой активности нелинейных крыс в тесте «открытое поле» / *Е.В. Курьянова, А.С. Укад, Ю.Д. Жукова* // Современные проблемы науки и образования. 2013. №5. URL: <http://www.science-education.ru/111-10029> (дата обращения 05.09.2013).
7. *Ломтева, Н.А.* Влияние экстракта лотоса орехоносного (*Nelumbo nucifera*) на поведение животных в суок-тесте / *Н.А. Ломтева, А.С. Чуприкова, В.Х. Андрешева* // Успехи современного естествознания. 2013. №8. С. 17-18.
8. *Лычкова, А.Э.* Соотношение активности симпатического, парасимпатического и серотонинергического отделов вегетативной нервной системы у

- кроликов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2005. Т. 140, № 11. С. 493-496.
9. Майоров, О.Ю. Оценка индивидуально-типологических особенностей и устойчивости интактных белых крыс-самцов на основе факторной модели нормального этологического спектра показателей в тесте «открытое поле» // Клиническая информатика и телемедицина. 2011. Т. 7, №8. С. 21-32.
 10. Маркель, А.Л. Факторный анализ поведения крыс в тесте открытого поля / А.Л. Маркель, Ю.К. Галактионов, В.М. Ефимов // Журн. высш. нерв. деят. 1988. Т. 38, №5. С. 855-863.
 11. Ellison, G. Behaviour and the balance between norepinephrine and serotonin // Acta Neurobiol. 1975. V. 35, N. 5-6. P. 499-515.
 12. Kang, M. Nelumbinis Semen reverses a decrease in hippocampal 5-HT release induced by chronic mild stress in rats / M. Kang, K.H. Pyun, C.G. Jang et al. // J. Pharm. Pharmacol. 2005. V. 57, N. 5. P. 651-656.
 13. Li, G.R. Effects of neferine on heart electromechanical activity in anaesthetized cats / G.R. Li, J.Q. Qian, F.H. Lü // Zhongguo Yao Li Xue Bao. 1990. V.11, N.2. P. 158-161.
 14. Rosencrans, S. Brain serotonin and pituitary-adrenal function in rats of different emotionalities // Arch. Internat. Pharmacodynamic. 1970. V. 187, N. 2. P. 349-366.
 15. Sugimoto, Y. Antidepressant-like effects of neferine in the forced swimming test involve the serotonin1A (5-HT1A) receptor in mice / Y. Sugimoto, S. Furutani, K. Nishimura et al. // Eur. J. Pharmacol. 2010. V. 634, N.1-3. P. 62-67.

INFLUENCE OF LOTUS (NELUMBO NUCIFERA) EXTRACT ON BEHAVIOURAL ACTIVITY AND HEART RHYTHM OF NONLINEAR RATS

© 2014 E.V. Kuryanova, Yu.D. Zhukova, N.V. Zhukovina

Astrakhan State University

Introduction of extract from seeds of lotus (*Nelumbo nucifera*) (50 mg/kg of body weight) within 14 days can have impact on behavior and variability of heart rhythm (VHR) of nonlinear rats. Against reception of extract indicators of approximate and research behavior decrease, intensity of heart rhythm at animal both male and female increases, at males heart rate also increases. In comparison with control the change of behavior indicators and VHR are generally insignificant, apparently, have nonspecific character.

Key words: *approximate and research behavior, "open field" test, variability, heart rhythm, extract, lotus (Nelumbo nucifera)*

Evgeniya Kuryanova, Doctor of Biology, Professor at the Department of Human and Animals Physiology and Morphology E-mail: fyzevk@rambler.ru
Yuliya Zhukova, Undergraduate Student
Nina Zhukovina, Undergraduate Student