

Воздействие нового экидистероидсодержащего препарата Серпистен на поведенческую активность и формирование клеточной адаптации у крыс при тепловом стрессе

© 2012. Л. И. Андреева¹, д.б.н., с.н.с., А. А. Бойкова¹, зав. лабораторией, А. А. Быкова^{1, 2}, лаборант, магистрант, В. В. Володин³, д.б.н., зав. лабораторией,
¹ Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова,
² Санкт-Петербургский государственный университет,
³ Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
 e-mail: mila@inteh.spb.ru

Исследовано влияние фитоэкидистероидного препарата Серпистен на поведение крыс Вистар и содержание в тканях печени, сердца и мозга двух белков стресса (белков теплового шока) семейства 70. Курсовое введение Серпистена в суммарной дозе 12 мг/кг активировало двигательную и исследовательскую активность крыс. Однако появились элементы тревожности, усиливаемые тепловым стрессом. Сочетание введения Серпистена и теплового стресса привело к увеличению массы надпочечников. Серпистен участвует в стресс-реакции организма, увеличивает содержание в тканях индуцибельного защитного белка Hsp70, свидетельствующего о срочной адаптации клетки. В печени отмечено увеличение содержания конститутивного белка Hsc70, что, по нашему мнению, отражает процессы долговременной структурно-функциональной адаптации.

We investigated the action of phytoecdysteroid preparation Serpisten on the behavior of Wistar rats and a content of two stress proteins 70 in liver, heart and brain. Administration of Serpisten in total dose 12 mg/kg led to activation of rat's motor and exploratory activity. Some elements of anxiety, which enhanced by heat stress, have been also noted. Combination of Serpisten delivering and heat stress gave increase of adrenals weight. Serpisten takes part in stress-reaction of organism and increases inducible protecting stress protein 70 (Hsp70) content in tissues. This finding testifies to urgent cellular adaptation. In liver we have noted increased content of cognate protein Hsc70. We think this fact reflects lasting structural and functional adaptation.

Ключевые слова: фитоэкидистероиды, тепловой стресс, адаптация, поведение, индуцибельный белок теплового шока семейства 70 (Hsp70), конститутивный белок теплового шока (Hsc70)

Key words: phytoecdysteroids, heat stress, adaptation, behavior, inducible heat shock protein Hsp70, cognate heat shock protein Hsc70

Введение

Фитоэкидистероиды, обнаруженные в некоторых видах растений, идентичны или структурно близки гормонам линьки и метаморфоза членистоногих. Этот факт свидетельствует о сложной взаимосвязи растений и насекомых, во многом определяющей численность их популяции [1 – 3]. В последние годы были показаны потенциальные возможности использования фитоэкидистероидов в медицине. Выяснилось, что экидистероиды непосредственно не взаимодействуют с рецепторами стероидных гормонов млекопитающих. Механизм их действия у животных и человека в настоящее время, в первую очередь, связывают с эффектами, оказываемыми на клеточную мембрану, однако не исключаются и их геномные эффекты [4, 5]. Также до конца не выяснены фармакокинетические характеристики экидистероидов. При введении 20-гидроксиэкидизона (20E)

внутри человеку период полувыведения составляет около 9 ч [4]. Однако не исключается его энтерогепатическая циркуляция, обеспечивающая более длительное нахождение 20E в организме. Адаптогенное действие экидистероидсодержащего препарата Серпистен сохраняется, по крайней мере, в течение нескольких дней после его отмены [6]. В настоящее время привлекательность препаратов, содержащих экидистероиды, определяется их множественными положительными эффектами у млекопитающих. Было обнаружено их анаболическое, тонизирующее действие наряду с большой терапевтической широтой и отсутствием у них токсичности в используемых дозах. Фитоэкидистероиды стимулируют биосинтез белка, ускоряют процессы заживления, повышают физическую работоспособность животных [4]. Немаловажным явилось обнаружение у фитоэкидистероидов противодиабетического и антиатеросклеротического действия, что зна-

чительно расширяет спектр их использования в качестве адаптогенов не только у здоровых людей, но и у людей с заболеваниями, прогрессирующими с возрастом, по В. М. Дильману, – «болезнями адаптации» [7].

Данное исследование было инициировано, с одной стороны, наличием у фитоэкдистероидов адаптогенных свойств, с другой – недостаточностью сведений о системных и клеточных механизмах их действия. В работе изучали воздействие курсового введения препарата Серпистен, содержащего фитоэкдистероиды растения серпуха венценосная (*Serratula coronata* L.), на изменение поведенческих реакций крыс, позволяющих судить о двигательной, исследовательской активности, степени тревожности и эмоциональности животных как в обычных условиях, так и при тепловом стрессе. Критерием адаптации на клеточном уровне служило определение содержания в тканях крыс белков теплового шока, или белков стресса семейства 70. Как мы полагаем, увеличение содержания индуцибельного белка стресса 70 (Hsp70) свидетельствует о срочной адаптации клетки, повышающей её жизнеспособность и устойчивость к действию стрессорных факторов, а увеличение содержания конститутивного белка теплового шока (Hsc70) преимущественно отражает процесс формирования структурно-функциональной адаптации [8].

Постановка эксперимента и использованные методы

В опыте использовали самцов крыс Вистар из питомника «Рапполово» (Ленинградская область). Работу с животными осуществляли согласно правилам лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). После привоза крысы были разделены на четыре группы (I – контроль, II – контроль + нагревание, III – Серпистен, IV – Серпистен + нагревание) и помещены в стандартные клетки по пять особей в каждую при свободном доступе к еде и воде, где они находились в течение трех недель. К моменту начала введения Серпистена масса крыс составила в среднем 252 ± 31 г. Каждый вечер у животных забирали еду, а утром вводили с помощью зонда воду или водный свежеприготовленный раствор Серпистена из расчёта 2 мг/кг. Фитоэкдистероидсодержащая субстанция Серпистен (Гр № 77.99.23.3.У.1923.3.08 от 11.03.2008 г.) разработана в лаборатории биохимии и биотехноло-

гии Института биологии Коми НЦ УрО РАН (зав. проф. В.В. Володин). Серпистен представляет собой сумму очищенных фитоэкдистероидов 20E и 25S-инокостерона, выделенных из листьев растений серпухи венценосной (*Serratula coronata* L., сем. Asteraceae). Объём вводимого раствора несколько варьировал с максимальным значением 0,5 мл в зависимости от массы тела животного. После процедуры введения Серпистена крысы получали еду. Серпистен и воду давали в течение семи дней (с одним днем пропуска в середине курса), итого шесть раз. Суммарная доза Серпистена составила 12 мг/кг.

Вечером заключительного дня эксперимента крыс групп II и IV подвергали нагреванию в водяной бане (стеклянный цилиндр диаметром 25 и высотой 40 см) с постоянным подогревом воды до $43,5^\circ\text{C}$ в течение 15 мин. Воду наливали до уровня 20 см. Сразу же после извлечения животного из водяной бани измеряли температуру тела с помощью ректального датчика электротермометра медицинского (ТПЭМ-1). Среднее значение температуры тела после нагревания составило $42,2 \pm 0,2^\circ\text{C}$ (в обычных условиях ректальная температура тела крысы – около $37,5^\circ\text{C}$). Животных высушивали полотенцем и помещали обратно в клетки.

Вечером перед окончанием опыта у крыс всех групп забирали еду. В последний день опыта в 10 ч утра проводили тестирование животных. Поведенческие реакции оценивались в тесте «открытое поле» (ОП) [9]. Тестируемых животных помещали в центр поля, освещённого по центру лампой 60 Вт на высоте 1 м. В течение 3 мин оценивали горизонтальную двигательную активность (количество пересечённых квадратов поля), исследовательскую активность (количество заглядываний в «норки», вставаний на задние лапы – стойки), эмоциональность и тревожность (количество болюсов дефекаций и количество уринаций), а также фиксировали количество отдельных актов и общее время груминга, выходов в центр поля и длительность замираний.

Затем животных тестировали в «приподнятом крестообразном лабиринте» (ПКЛ) в течение 5 мин. В настоящее время этот тест считается наиболее адекватным для оценки тревожности [10]. Тревожность, определяемая по данной методике, отражает естественный страх высоты и открытых пространств у грызунов. Время пребывания в открытых рукавах лабиринта специфически отражает уровень тревожности животного: увеличение вре-

мени пребывания в открытых рукавах свидетельствует об уменьшении тревожности. Оценивали исследовательскую активность (количество заглядываний в закрытые рукава и выглядывание из них, вставаний на задние лапы, число переходов из одного рукава в другой), тревожность (время первого выбора закрытого рукава, время нахождения в открытых и закрытых рукавах, количество свешиваний), эмоциональность и тревожность (количество болюсов дефекаций и количество уринаций) и так же, как и в тесте ОП, фиксировали число отдельных актов и общее время груминга, длительность замираний. Во время выполнения крысами тестов ОП и ПКЛ осуществляли видеозапись. Впоследствии производили подсчет всех элементов поведения животных.

Через час после поведенческих тестов крыс усыпляли внутрибрюшинным введением тиопентала натрия (40 мг/кг) и производили взятие тканей печени, сердца (левого желудочка) и головного мозга (гиппокамп) для определения содержания двух белков стресса с молекулярной массой 70 кД (Hsp70 и Hsc70). Также определяли массу обоих надпочечников. Пробы для определения белков готовили сразу после взятия материала. Для приготовления проб навески тканей 30 мг гомогенизировали ручным тefлоновым гомогенизатором в лизирующем буфере. Далее пробы помещали в морозильную камеру на 40 мин., после чего снова гомогенизировали и ставили на заморозку. После повторного размораживания экстракты центрифугировали при 3500 g в течение 5 мин, затем в супернатанте измеряли концентрацию белка по методу M. Bradford [11]. Для электрофореза из белковых экстрактов тканей сердца, печени, мозга готовили пробы с конечной концентрацией белка 10 мкг/мкл (для сердца), 5 и 20 мкг/мкл (для печени) и 5 мкг/мкл (для мозга). До процедуры электрофореза пробы хранили при -20 °C.

Электрофоретическое разделение белков проводили по методу U.K. Laemmli [12]. Образцы гиппокампа, сердца и печени наносили в лунки стартового геля из расчета соответственно 50, 80 и 40 мкг для Hsp70 и 10, 20 и 5 мкг для Hsc70. Перенос электрофоретически разделённых белков на PVDF мембрану («MP Biomedicals», США) с последующей иммунной идентификацией этих двух белков проводили по методу H. Towbin [13]. В качестве первичных антител к белкам теплового шока использовали кроличьи поликлональные антитела RAR к Hsp70 и мышинные моноклональные антитела N69 к Hsc70, предоставленные

лабораторией защитных механизмов клетки Института цитологии РАН. В качестве вторичных антител использовали антитела против иммуноглобулина мыши («Dako», Дания) и антитела против иммуноглобулина кролика («Absam», Великобритания), меченные пероксидазой хрена. Мембраны сканировали и обсчитывали с использованием специальной компьютерной программы анализа графических изображений, учитывающей площадь пятна и интенсивность окрашивания. Результаты представляли в условных единицах.

Статистическую обработку данных производили с помощью программы Statistica 6 с нахождением среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Для обработки данных после исключения экстремумов проводили тест на нормальность распределения. Использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых групп.

Результаты и обсуждение

Курсовое введение Серпистена в суммарной дозе 12 мг/кг не привело к изменению массы надпочечников, но после теплового воздействия и абсолютная их масса, и её доля по отношению к массе тела достоверно возросли у животных IV группы по сравнению с I-III группами. Гиперплазия надпочечников после перенесённого воздействия отражает реализацию стресс-реакции на уровне организма, где задействована ось гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников. По-видимому, введение Серпистена потенциально может активировать функцию надпочечников, что наиболее отчетливо проявилось на фоне теплового воздействия (рис. 1).

Курсовое введение Серпистена (наметилась тенденция) и особенно Серпистена с нагреванием привело к активизации горизонтальной двигательной активности животных в тесте ОП (табл. 1). Число пересечённых квадратов достоверно больше в IV группе по сравнению с I и II группами. Заметно увеличилась исследовательская активность крыс (норки) после курса Серпистена, особенно выражены изменения в IV группе. Как курсовое введение Серпистена, так и Серпистена с последующим нагреванием привело к заметному снижению числа отдельных актов груминга и общего времени груминга (табл. 1). Груминг рассматривают как гигиеническую чистку (активная форма поведения) и в качестве показателя смещённой двигательной активности, характерной для состояния озабоченности, ре-

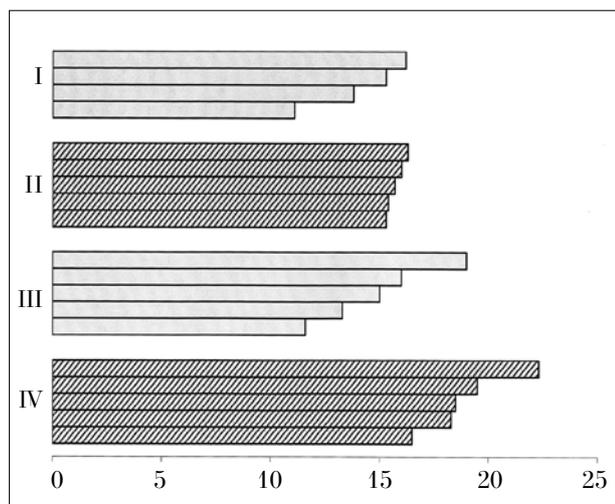


Рис. 1. Изменение массы надпочечников при введении серпистена и теплового воздействия. Достоверны различия между группами I-III ($P = 0,014$), II-IV ($P = 0,009$) и III-IV ($P = 0,047$)
Примечание: Здесь и далее: каждый столбик – отдельное животное.

акции на новизну, потребности устранения беспокойства, как инверсию активных форм защиты в пассивную форму. Активация груминга, по мнению В.П. Пошивалова [9], может являться стресс-протективным признаком поведения грызунов.

Таким образом, по результатам тестирования поведения в ОП курсовое введение Серпистена увеличило двигательную и исследовательскую активность животных, особенно выражено после их нагревания, не изменило тревожности (время замираний, выходы в центр поля), эмоциональности (количество болюсов дефекаций) и страха (количество уриаций), значительно уменьшило смещённую двигательную активность (груминг). В тесте ПКЛ были выявлены изменения поведения в III и, в особенности, в IV группах (табл. 2). Время первого ухода крыс в закрытые рукава после курса Серпистена не изменилось по сравнению с I и II группами, но животные не

переходили из одного в другой закрытый рукав, тенденция к увеличению времени замираний также имела место, что могло бы свидетельствовать об увеличении их тревожности. Однако другие показатели, которые учитываются при оценке тревожности, эмоциональности и страха, не изменились. Так, время пребывания крыс в закрытых рукавах и количество свешиваний не изменились по сравнению с I группой. Кроме того, в III группе отсутствовали уриации (признак страха). То есть тестирование поведения крыс данной группы в ПКЛ показало их более спокойное поведение в ситуации, обычно вызывающей возникновение тревожности и страха у крыс. Противоположную направленность носили изменения в поведении крыс, получавших Серпистен, в тесте ПКЛ после теплового воздействия. Крысы IV группы свешивались с рукавов лабиринта. Они быстрее уходили в закрытые рукава после помещения их на ПКЛ и дольше в них находились. Вместе с тем, в отличие от III группы, больше переходили из одного закрытого рукава в другой (табл. 2). Более быстрый уход IV группы крыс в закрытые рукава и большее время пребывания в них по сравнению со всеми другими группами животных являются проявлением тревожности под воздействием сочетанного действия Серпистена и теплового стресса.

Таким образом, по результатам двух поведенческих тестов следует отметить, что наибольшие изменения в поведенческой активности крыс были в IV группе в плане активизации двигательной и исследовательской активности (тест ОП), но с проявлениями тревожности (тест ПКЛ).

Определение содержания индуцибельного белка стресса Hsp70 в тканях крысы после курса Серпистена показало, что в гиппокампе (рис. 2а) его содержание имело тенденцию к увеличению (в 1,5 раза), в печени (рис. 2б) – почти в четыре раза ($P = 0,021$),

Таблица 1

Изменение паттернов поведения крыс (тест «открытое поле») после курсового введения Серпистена и теплового воздействия

Паттерн поведения	Группа				Достоверность различий (группа), P
	I	II	III	IV	
Активность					
двигательная	35,5 ± 13,5	39,4 ± 4,6	43,0 ± 16,7	56,6 ± 11,5	0,050 (I, IV) 0,009 (II, IV)
исследовательская	4,8 ± 4,5	4,2 ± 6,3	7,6 ± 6,2	11,0 ± 3,1	0,050 (I, IV)
Груминг					
количество отдельных актов	3,5 ± 3,7	6,4 ± 4,0	1,4 ± 1,3	0,8 ± 0,8	0,012 (II, IV)
суммарное время, с	10,3 ± 10,1	14,5 ± 6,3	6,0 ± 8,8	1,0 ± 1,4	0,021 (II, IV)

Таблица 2

Изменение паттернов поведения крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» после курсового введения Серпиštena и теплового воздействия

Паттерн поведения	Группа				Достоверность различий (группа), P
	I	II	III	IV	
Тревожность					
время первого выбора закрытого рукава, с	38,3 ± 16,5	49,4 ± 34,6	29,8 ± 7,9	8,5 ± 5,1	0,021 (I, IV) 0,028 (II, IV) 0,021 (III, IV)
длительность нахождения в закрытых рукавах, с	200,3 ± 87,1	230,0 ± 17,8	192,0 ± 95,6	289,5 ± 8,7	0,021 (I, IV) 0,014 (II, IV) 0,014 (III, IV)
количество свешиваний	11,5 ± 5,7	10,6 ± 5,8	8,0 ± 6,8	4,4 ± 2,4	0,050 (I, IV)
Активность					
исследовательская	5,3 ± 1,3	3,8 ± 2,4	2,2 ± 2,9	6,6 ± 2,5	0,037 (III, IV)
количество переходов между закрытыми рукавами	2,3 ± 1,5	1,6 ± 1,1	0	2,4 ± 2,6	0,021 (I, III)
Замирание					
длительность, с	23,8 ± 18,9	75,8 ± 43,0	90,4 ± 67,5	43,0 ± 40,3	0,050 (I, II)
Количество уринаций	1,3 ± 1,3	1,0 ± 0,7	0	0,8 ± 0,8	0,028 (I, III) 0,037 (II, III)

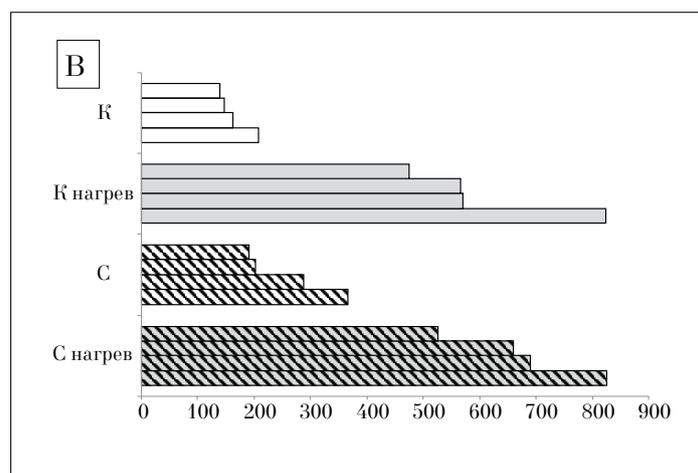
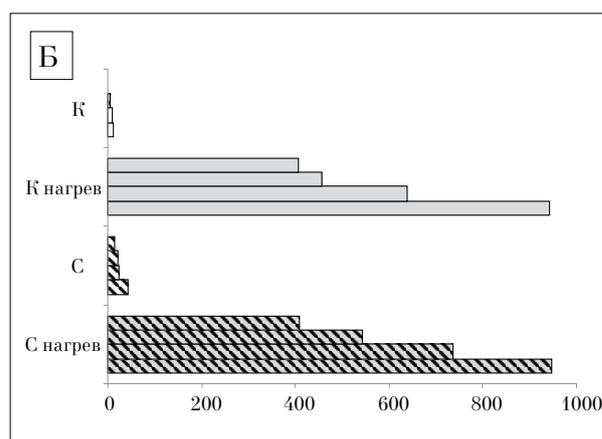
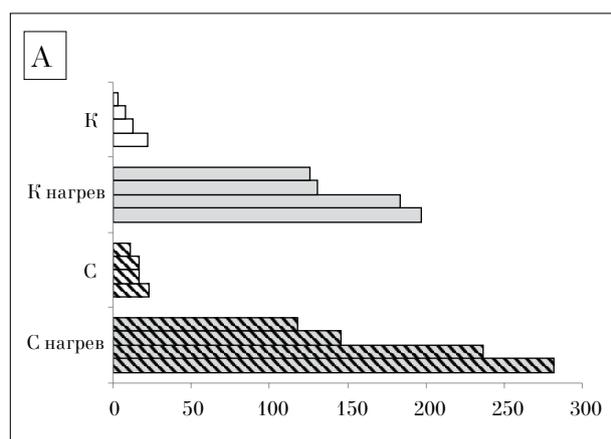


Рис. 2. Содержание Hsp70 в гиппокампе (а), печени (б) и левом желудочке сердца (в) крысы после курсового введения Серпиštena и теплового воздействия. По горизонтали – относительные единицы, соответствующие количеству Hsp70

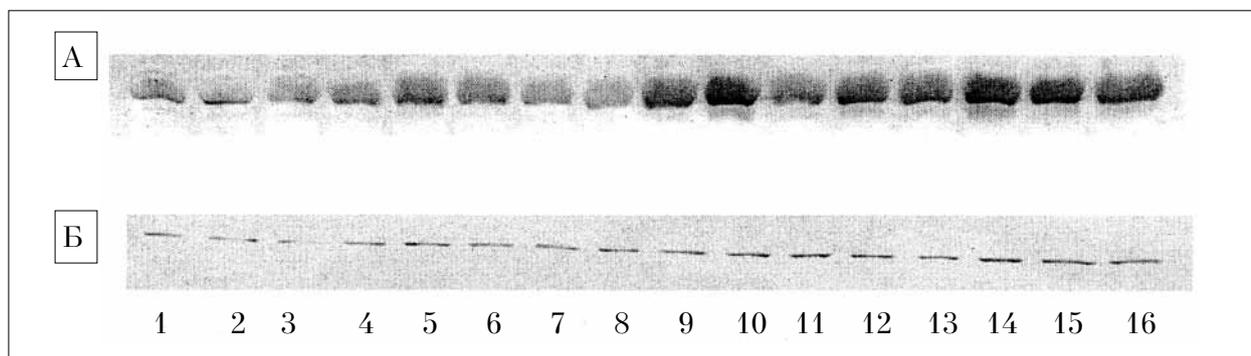


Рис. 3. Выявление индуцибельного белка стресса Hsp70 в левом желудочке сердца (А) и конститутивного белка стресса Hsc70 в печени (Б) крысы методом иммуноблоттинга.
Условные обозначения: 1 – 4 – группа К, 5-8 – группа С, 9 – 12 – группа К нагрет, 13-16 – группа С нагрет

в сердце (рис. 2в, 3) также отмечали увеличение ($P = 0,083$). После теплового воздействия содержание Hsp70 увеличилось в разной степени в разных тканях (рис. 2 и 3), при этом у крыс IV группы не было разницы в индукции Hsp70 при тепловом стрессе по сравнению с контролем (II группа). Серпистен не способствует увеличению содержания Hsp70 в тканях крысы после теплового воздействия в отличие от лимонника, который усиливает экспрессию Hsp70 у крыс после перегревания, действуя синергично теплу. Содержание конститутивного белка Hsc70 в сердце и гиппокампе практически не изменилось, а в печени отмечено увеличение ($P = 0,021$) его содержания после курса Серпистена в суммарной дозе 12 мг/кг (рис. 4). Можно полагать, что введение Серпистена запускает механизмы срочной адаптации, наилучшим образом проявляющиеся в печени и сердце крыс (Hsp70), что свидетельствует об активации защитных механизмов клетки. Увеличение Hsc70 отмечено лишь в печени при введении суммарной дозы Серпистена 12 мг/кг, что можно связать с увеличением биосинтеза белков в печени.

Данные, полученные в настоящем исследовании, демонстрируют способность Серпистена при курсовом введении крысам в суммарной дозе 12 мг/кг активизировать двигательную и исследовательскую активность животных (тест ОП), с другой стороны, отмечены признаки, характерные для повышенной тревожности животных (тест ПКЛ). Найденные изменения поведенческой активности усиливаются после теплового стресса на фоне введения Серпистена. Увеличение массы надпочечников после курса Серпистена в совокупности с тепловым стрессом также свидетельствует об усилении Серпистеном реакции организма на тепловой стресс. Возможно, Серпистен вмешивается в активацию оси

гипоталамус – гипофиз – кора надпочечников и симпатно-адреналовой системы. Однако пока не ясно, на каком уровне организации стресс-реакции действует Серпистен и каковы клеточные и молекулярные механизмы его действия.

Непосредственное действие Серпистена на нейроны улитки в широком диапазоне доз, начиная с 0,01 мкг/мл, выявило неселективную активацию натриевого и кальциевого трансмембранных токов [14], что можно объяснить неспецифическим действием экдистероидов на мембраны нервных клеток. Активирующее действие 20Е на Na^+/H^+ обмен в слюнных железах дрозофилы является Ca^{2+} -зависимым [15]. Также было недавно показано усиление входа кальция в клетки скелетных мышц мыши под влиянием 20Е [16]. Возможно, механизм неспецифической активации нейронов усилением входящих кальциевых токов под действием Серпистена объясняет активизацию поведения, обнаруженную в данном исследовании.

Известно, что повышение содержания индуцибельного белка стресса семейства 70 является отражением действия на клетки организма возбуждающих/стрессирующих факторов. Поэтому обнаруженное нами увеличение содержания Hsp70 в тканях крысы после курсового введения Серпистена также свидетельствует о том, что фитоэкдистероиды оказывают стрессподобное действие, являясь мягкими стрессорами (или прострессорами), не вызывающими повреждений. Поскольку увеличение устойчивости (адаптация) клеток и организма в целом формируется в ответ на предъявляемый вызов, то увеличение содержания в тканях защитного белка Hsp70 отражает процесс срочной адаптации, в данном случае происходящий под влиянием фитоэкдистероидов. Приобретение более долговременной устойчи-

ности, связанной с активацией пластических процессов и повышением энергетического потенциала клеток, невозможно без участия конститутивного белка Hsc70 [6], увеличение содержания которого отмечено нами в печени после курсового введения Серпистана. Очевидно, печень является органом первой линии при пероральном введении экдистероидов. Анаболическое действие экдистероидов на печень и стимуляция синтеза белка в печени грызунов были обнаружены ещё 40 лет назад [17]; фитоэкдистероиды оказывают также гепатопротекторный и восстанавливающий функцию печени эффект при ее токсическом повреждении [18].

По всей видимости, важным механизмом действия фитоэкдистероидов, объясняющим их стимулирующее действие на биосинтез клеточных белков, служит потенцирование сигнального пути, связанного с поступлением ионов кальция в клетку, активацией фосфатидилинозитол-3 киназы (PI3 киназы) и протеинкиназы B (Akt), что в конечном итоге приводит к активации белкового синтеза и повышению выживаемости клетки [16]. У хлопковой совки (*Helicoverpa armigera*) Hsc70 принимает непосредственное участие в передаче сигнала от 20E через связывание с белком USP1 и последующим запуском экспрессии 20E-связанных генов [19]. У млекопитающих Hsc70 совместно с Hsp90 участвует в регуляции активности Akt. В период восстановления после стресса Hsc70 накапливается в ядрышках, этот процесс невозможен без участия протеинкиназ, в частности, PI3 киназы [20].

Необходимо дальнейшее изучение системных и клеточных механизмов действия фитоэкдистероидов, что представляет несомненный научный интерес, а также обусловлено потребностью в подобных препаратах для практического здравоохранения.

Исследования выполнены при финансовой поддержке программы президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № 12-П-4-1023: «Научные основы создания адаптогенных и геропротекторных средств растительного происхождения»).

Литература

1. Lafont R. Phytoecdysteroids in the World flora: diversity, distribution, biosynthesis and evolution // *Rus. J. Plant Physiol.* 1998. V. 45. P. 276–295.
2. Dinan L. Phytoecdysteroids: biological aspects // *Phytochem.* 2001. V. 57. P. 325–339.

3. Уфимцев К.Г., Ширшова Т.И., Володин В.В. Фитоэкдистероиды – детерренты насекомых-фитофагов. Екатеринбург. 2009. 89 с.

4. Lafont R., Dinan L. Practical uses for ecdysteroids in mammals and human: an update // *Insect. Sci.* 2003. V. 3. № 7. 30 p.

5. Bathori M., Toth N., Hunyadi A. et al. Phytoecdysteroids and anabolic-androgenic steroids structure and effects on humans // *Curr. Med. Chem.* 2008. V. 15. № 1. P. 75–91.

6. Фитоэкдистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.

7. Дильман В.М. Четыре модели медицины. Л.: Медицина, 1987. 288 с.

8. Андреева Л.И., Бойкова А.А., Маргулис Б.А. Особенности внутриклеточного содержания и функциональная роль белков теплового шока семейства 70 кДа при стрессе и адаптации // *Технологии живых систем.* 2009. Т. 6 № 3. С. 11–17.

9. Пошивалов В.П. Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах. М. 1978. 43 с. (Деп. в ВИНТИ; № 3164-78).

10. Green S., Hodges H. Animal models of anxiety // *Behavioural models of psychopharmacology* / Ed. by P. Willner. Cambridge: CUP, 1991. P. 21–49.

11. Bradford M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. V. 72. P. 248–254.

12. Laemmli R.K. Cleavage and structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* 1970. V. 227. P. 680–685.

13. Towbin H., Staehelin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1979. V. 7. P. 4350–4354.

14. Вислобоков А.И., Володин В.В., Игнатов Ю.Д. и др. Влияние экдистероидной фракции из *Serratula coronata* на трансмембранные ионные токи нейронов улитки // *Эксперим. клин. фармакол.* 2006. Т. 69. № 6. С. 9–12.

15. Schneider S., Wunsch S., Schwab A., Oberleithner H. Rapid activation of calcium-sensitive Na⁺/H⁺ exchange induced by 20-hydroxyecdysone in salivary gland of *Drosophila melanogaster* // *Mol. Cell. Endocrinol.* 1996. V. 116. № 1. P. 73–79.

16. Gorelick-Feldman J., Cohick W., Raskin I. Ecdysteroids elicit a rapid Ca²⁺ flux leading to Akt activation and increased protein synthesis in skeletal muscle cells // *Steroids.* 2010. V. 75. № 10. P. 632–637.

17. Otaka T., Okui S., Uchiyama M. Stimulation of protein synthesis in mouse liver by ecdysterone // *Chem. Pharm. Bull.* 1969. V. 17. № 1. P. 75–81.

18. Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Комарин А.С. и др. Экспериментальная и клиническая оценка эффективности экдистена в лечении гепатита // Эксперим. клин. фармакол. 2004. Т. 68. № 5. С. 56–59.

19. Zheng W.W., Yang D.T., Wang X.J. et al. Hsc70 binds to ultraspiracle resulting in the upregulation of 20-hydroxyecdysone-responsive genes in *Helicoverpa*

armigera // Mol. Cell. Endocrinol. 2010. V. 315. № 1-2. P. 282–291.

20. Banski P., Mahboubi H., Kodiha M. et al. Nuclear targeting of the chaperone HSC70 is regulated by stress, cell signaling and a composite targeting signal which is controlled by autoinhibition // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. № 28. P. 21858–21867.

УДК 612.111: 577.25: 581.198:547.918

Гематопротекторное действие экдистероидсодержащей субстанции Серпистен

© 2012. Н. А. Мойсеенко¹, к.б.н., доцент, Ж. Е. Иванкова¹, к.б.н., доцент,
Е. Н. Репина¹, к.б.н., доцент, В. В. Володин², д.б.н., зав лабораторией,

¹ Сыктывкарский государственный университет,

² Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,
e-mail: volodin@ib.komisc.ru

Исследовано влияние экдистероидсодержащего препарата Серпистен на показатели крови лабораторных животных (крысы, кролики) в норме и при вызванных гемолитической (фенилгидразин) и постгеморрагической (кровопускание) анемиях. Установлено, что на фоне гемолитической анемии у крыс введение Серпистена снижает уровень ретикулоцитоза по сравнению с животными, которым вводился гемолитик, сдвигая его к уровню интактных животных. В крови при этом было уменьшено число эритроцитов с тельцами Гейнца, а также количество ауторозеток. Показано, что в условиях гемолитической анемии введение Серпистена улучшает показатели фагоцитарной активности и суммы поглощенных клеток. Аналогичные эффекты Серпистена наблюдали и в экспериментах на кроликах с кровопусканием. Серпистен может рассматриваться как потенциальное гематопротекторное средство.

The effect of ecdysteroid containing preparation Serpisten on blood indices of laboratory animals (rats, rabbits) in norm and induced hemolytic (phenylhydrazine) and post-hemorrhagic anemia is studied. It is found that on the background of hemolytic anemia in rats the introduction of Serpisten reduces reticulocytosis as compared with the animals, treated with hemolytic poison, reduces number of erythrocytes with Heinz bodies, as well as number of autorosettes. It is shown that in condition of hemolytic anemia introduction of Serpisten improves phagocytic activity and the total sum of absorbed cells. Similar effects of Serpisten were observed in the experiments on rabbits with bloodletting. Serpisten can be considered as a potential hematoprotective remedy.

Ключевые слова: анемия, фенилгидразин, эритроцит, лейкоцит, ретикулоцит, тельца Гейнца, осмотическая резистентность, гемоглобин, фагоцитоз, фитоэкдистероиды, Серпистен

Keywords: anemia, phenylhydrazine, erythrocyte, leukocyte, reticulocyte, Heinz bodies, osmotic resistance, hemoglobin, phagocytosis, phytoecdysteroids, Serpisten

Фитоэкдистероиды – полигидроксированные стероидные соединения, структурно близкие гормонам линьки и метаморфоза насекомых, обладающие фармакологическим действием на млекопитающих и человека. Известно более 250 различных экдистероидов, найденных в растениях. Наиболее перспективными в качестве источников экдистероидов являются растения из родов *Serratula* (Astraceae) и *Silene* (Caryophyllaceae) [1]. Мы

исследовали действие на показатели крови экдистероидсодержащей субстанции Серпистен (*далее* – Серпистен), которая была выделена из надземной части растений серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.) в лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН (зав. лаб. проф. В.В. Володин) [2]. Состав субстанции: 20-гидроксиэкдизон (20E) – 80, инокостерон – 11, экдизон – 4% и другие минорные