

11. Sánchez-Valle V., Chávez-Tapia N.C., Uribe M., Méndez-Sánchez N. Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review // *Curr. Med. Chem.* 2012. Vol. 19, No. 28. P. 4850–4860.
12. Sahin E., Gümüürlü S. Stress-dependent induction of protein oxidation, lipid peroxidation and anti-oxidants in peripheral tissues of rats: comparison of three stress models (immobilization, cold and immobilization-cold) // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2007. Vol. 34, No. 5–6. P. 425–431.
13. Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS+ radical cation decolorization assay // *Free Radic. Biol. Med.* 1999. Vol. 26, No. 9–10. P. 1231–1237.
14. Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasendin I.M. An universal reagent for phospholipid analysis // *J. Chromatogr.* 1975. Vol. 114, No. 1. P. 129–141.
15. Yu M., Jamieson G.A.Jr, Leikauf G.D., Nebert D.W. Phospholipase A2 activation and increases in specific prostaglandins in the oxidatively stressed 14 CoS/14 CoS mouse hepatocyte line // *Biochem Pharmacol.* 1998. Vol. 55, No. 2. P. 193–200.

Поступила в редакцию 31.01.2013.

## DISTURBANCES IN METABOLIC PROCESSES IN LIVER OF RATS EXPOSED TO STRESS

S.E. Fomenko<sup>1</sup>, N.F. Kushnerova<sup>1,2</sup>, V.G. Spryigin<sup>1</sup>, T.V. Momot<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pacific Oceanological Institute, FEB RAS (43 Baltiyskaya St. Vladivostok 690041 Russian Federation), <sup>2</sup>School of Biomedicine of the Far Eastern Federal University (8 Sukhanova St. Vladivostok 690950 Russian Federation), <sup>3</sup>A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (17 Palchevskogo St. Vladivostok 690059 Russian Federation)

**Summary** – The authors have studied effects of acute stress on the carbohydrate and lipid metabolisms and the state of antioxidative status of liver in rats. The stress was modelled by vertically fixing the animals over dorsal nuchal fold during 22 hours. The acute stress caused a decrease in the intensity of aerobic glycolysis, pentose phosphate cycle, glycconeogenesis, activation of lipolysis, and tension of antioxidant protection system and enhancement of lipid peroxidation. The etherifying function of liver was disturbed, and the lipids were prevailing energetic substrates.

**Key words:** stress, liver, lipid metabolism, carbohydrate metabolism.

Pacific Medical Journal, 2013, No. 2, p. 67–70.

УДК 581.794.2:612.433.62:615.256.51

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БОРЩЕВИКОВ

Д.М. Черняк

Горнотаежная станция им. В.Л. Комарова Дальневосточного отделения Российской академии наук (692533, Приморский край, Уссурийский район, с. Горнотаежное, ул. Солнечная, 26)

**Ключевые слова:** борщевик Сосновского, борщевик Меллендорфа, токсичность, гонадотропное действие.

В эксперименте на белых мышах изучена биологическая активность борщевика Сосновского (интродуцент) и борщевика Меллендорфа (представитель местной флоры юга Приморского края) на токсичность и гонадотропное действие. Показано, что токсичность водного извлечения из борщевика Сосновского составляет 1,07 мл / 20 г мыши, а из борщевика Меллендорфа – 1,83 мл / 20 г мыши. Извлечение из борщевика Сосновского обладает андрогенным действием.

Одним из главных вопросов нейроэндокринных взаимоотношений является вопрос о механизмах формирования и функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадотропной системы. К гонадотропным гормонам относятся фоллитропин (фолликулостимулирующий гормон) и лютеотропный гормон, которые вырабатываются у животных в аденогипофизе, но количественные соотношения их и ритм секреции имеют половые различия [9, 12].

Гонадотропная функция гипофиза начинает формироваться на ранних стадиях внутриутробного развития. До наступления полового созревания гонадотропины секретируются тонически, то есть без выраженной цикличности. Цикличность секреции гонадотропных гормонов гипофиза определяется закономерностью половых циклов. У взрослых особей гипоталамическая регуляция их секреции осуществляется по-разному в зависимости от пола. Если у самок секреция гонадотропинов происходит циклически, то у самцов поддерживается на относительно постоянном уровне [7, 9].

Одним из важнейших физиологически активных веществ, вовлеченных в регуляцию секреции гормонов гипофиза, считается серотонин. В последние годы появились работы, свидетельствующие о его прямом влиянии на железистые клетки аденогипофиза. Важным показателем этого является специфический захват серотодина клетками аденогипофиза, в частности, гонадотропоцитами [15].

Фурукумарины, содержащиеся в соке борщевиков, обладают эстрогенной активностью. По мнению ряда исследователей, такие соединения в определенных количествах необходимы животным, так как активно участвуют в обмене веществ, стимулируют рост, молочную и мясную продуктивность [4, 5]. Одновременно они повышают половую активность животных, но в случае повышенного содержания их в растениях могут вызывать нарушение функции размножения, т.е. привести к увеличению количества перегулов, к абортам, бесплодию и запоздалой лактации у перволеток [3].

Работы В.Г. Шиманова [13] являются подтверждением этого положения. В них автор обратил внимание на перегулы и бесплодие каракульских овец при выпасе их на пастбищах, покрытых Псоралеей костянковой, и экспериментально доказал, что семена растения и выделенная из них смесь псоралена с ангелицином обладают эстрогенной активностью от 833 до 10000 МЕ на 1 кг сухой массы. Ежедневная подкормка семенами псоралеи белых мышей (0,3 г) и каракульских овец (200 г на голову) в случной период временно нарушала половой цикл, вызывая тем самым стерилизующий эффект и бесплодие.

По данным А.Г. Курмукова и др. [7], псорален (50 мг/кг в течение 30 суток) удлинит продолжительность полового периода у крыс на 6–7 суток. Введение его оплодотворенным самкам крыс вызывало гибель от 62 до 90 % плодов. Показано, что зеленная масса борщевиков Сосновского и Лемана обладает эстрогенной активностью менее чем 500 МЕ на 1 кг сухой массы [3, 13]. При введении подкожно белым мышам извлечение из растений рода борщевик отмечено изменение деятельности половых желез. Утверждение, что такая эстрогенная активность присуща многим растениям и не влияет отрицательно на физиологические функции животных, подтверждено рядом авторов [10].

Следует отметить, что в борщевиках содержатся биологически активные вещества из группы кумаринов. Особенный интерес при кормлении животных должны представлять водорастворимые активные соединения. В исследованиях ряда авторов отмечено, что кормление коров силосом с борщевиком Сосновского способствует увеличению частоты сердечных сокращений [7]. Предположительно, в этом растении гонадотропным действием могут обладать фурукумарины, наибольшее количество которых находится в соцветии и плодах.

Целью настоящей работы явился анализ биологической активности борщевика Сосновского (интродуцент) и борщевика Меллендорфа (представитель местной флоры юга Приморского края) на токсичность и гонадотропное действие.

**Материал и методы.** Эксперимент проведен на мышах. Животные содержались в стандартных условиях вивария на стандартном пищевом рационе (ООО «Лаборагоркорм», Россия), при свободном доступе к воде и естественном световом режиме с соблюдением всех правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах [15], и с разрешения комиссии по биомедицинской этике при Горнотаежной станции ДВО РАН.

Токсичность определяли по методу Д.А. Кербера на беспородных самцах весом по 20 г [2]. Мыши были разделены на группы по 8 особей. Каждой группе животным вводилась в желудок определенная доза препарата.

Расчет полулетальной дозы делался по формуле:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(zd)}{m},$$

где  $LD_{50}$  – полулетальная доза,  $LD_{100}$  – доза изучаемого препарата, которая вызывала учитываемый эффект у всей группы животных,  $d$  – интервал между каждыми двумя смежными дозами,  $z$  – среднее арифметическое из числа животных, у которых наблюдалась учитываемая реакция под влиянием каждой двух смешанных доз,  $m$  – число животных в каждой группе.

Для анализа гонадотропного действия использовались 40 белых беспородных неполовозрелых мышей-самцов массой 6,7–7 г и 40 беспородных мышей-самок с массой тела 7–7,5 г. При разделении на группы животных

ранжировали по массе тела и половым признакам. Было сформировано 4 группы. Использовалось водное извлечение (настойка 1:1) из борщевика Сосновского, которое вводилось в течение 10 дней подкожно в дозах 0,1, 0,22 и 0,34 мл на одну мышь. Гонадотропное действие определялось путем взвешивания матки и яичников, семенных пузырьков с предстательной железой и семенников и определения их отношения к весу тела мыши [1, 6].

**Результаты исследования.** При изучении токсического действия определялась доза, не вызывавшая эффекта ни у одного животного, и доза, вызывавшая эффект у всех животных группы. Препарат из борщевика Сосновского в дозе 15 мл/кг (0,3 мл) не вызывал гибели мышей. Через 30–60 мин после введения наблюдались нарушение координации, малая подвижность и боковое положение в течение 5–10 часов. Через сутки физиологическое состояние животных нормализовалось. 50 % гибель мышей регистрировалась при введении в желудок водного извлечения из борщевика Сосновского в дозе 1 мл, что в перерасчете на сухой остаток соответствовало 1338 мг/кг (табл. 1), и водного извлечения из борщевика Меллендорфа в дозе 1,83 мл, что в перерасчете на сухой остаток соответствовало 2288 мг/кг (табл. 2).

Расчет токсичности для борщевика Сосновского:

$$m = 8, \sum(zd) = 0,1 + 0,4 + 1,2 + 2,75 + 3,25 + 3,75 = 11,45,$$

$$LD_{100} = 2,5 \text{ мл} / 20 \text{ г мыши},$$

$$LD_{50} = 2,5 - (11,45/8) = 1,07 \text{ мл} / 20 \text{ г мыши}.$$

Расчет токсичности для борщевика Меллендорфа:

$$m = 8, \sum(zd) = 0,15 + 0,75 + 1,75 + 3 + 3,75 = 9,4,$$

$$LD_{100} = 3 \text{ мл} / 20 \text{ г мыши},$$

$$LD_{50} = 3 - (9,4/8) = 1,83 \text{ мл} / 20 \text{ г мыши}.$$

При изучении гонадотропного действия доза извлечения из борщевика Сосновского в 0,34 мл способствовала увеличению отношения веса семенных пузырьков с предстательной железой к весу тела самца мыши на

Таблица 1

Расчет токсичности водного извлечения из борщевика Сосновского

| Показатель | Доза, мл / 20 г мыши |     |     |     |      |      |      |
|------------|----------------------|-----|-----|-----|------|------|------|
|            | 0,3                  | 0,5 | 0,7 | 1   | 1,5  | 2    | 2,5  |
| Выжило     | 8                    | 7   | 5   | 3   | 2    | 1    | 0    |
| Погибло    | 0                    | 1   | 3   | 5   | 6    | 7    | 8    |
| $z$        | –                    | 0,5 | 2,0 | 4,0 | 5,5  | 6,5  | 7,5  |
| $d$        | –                    | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,5  | 0,5  | 0,5  |
| $zd$       | –                    | 0,1 | 0,4 | 1,2 | 2,75 | 3,25 | 3,75 |

Таблица 2

Расчет токсичности водного извлечения из борщевика Меллендорфа

| Показатель | Доза, мл / 20 г мыши |      |      |      |     |      |
|------------|----------------------|------|------|------|-----|------|
|            | 0,7                  | 1    | 1,5  | 2    | 2,5 | 3    |
| Выжило     | 8                    | 7    | 6    | 3    | 1   | 0    |
| Погибло    | 0                    | 1    | 2    | 5    | 7   | 8    |
| $z$        | –                    | 0,5  | 1,5  | 3,5  | 6,0 | 7,5  |
| $d$        | –                    | 0,3  | 0,5  | 0,5  | 0,5 | 0,5  |
| $zd$       | –                    | 0,15 | 0,75 | 1,75 | 3,0 | 3,75 |

Таблица 3

Гонадотропное действие водного извлечения из борщевика  
Сосновского на самцов

| Группа          | Доза, мл | По отношению к весу мыши |                |
|-----------------|----------|--------------------------|----------------|
|                 |          | вес семенных пузырьков   | вес семенников |
| Контроль (вода) | 0,22     | 0,4439±0,0520            | 1,3854±0,0950  |
|                 | 0,10     | 0,4500±0,0491            | 1,4912±0,1310  |
| Опыт            | 0,22     | 0,4611±0,0570            | 1,6734±0,1580  |
|                 | 0,34     | 0,4891±0,0610            | 2,1365±0,1250  |

Таблица 4

Гонадотропное действие водного извлечения из борщевика  
Сосновского на самок

| Группа          | Доза, мл | Вес матки с яичниками по отношению к весу мыши | Вес мышей в конце опыта, г |
|-----------------|----------|--|----------------------------|
| Контроль (вода) | 0,22     | 0,9188±0,0075                                  | 7,2                        |
|                 | 0,10     | 0,9176±0,0088                                  | 7,4                        |
| Опыт            | 0,22     | 0,9073±0,0101                                  | 7,5                        |
|                 | 0,34     | 0,8876±0,0213                                  | 5,6                        |

10% и увеличению веса семенников на 54%. Меньшие дозы (0,1 и 0,22 мл) не оказывали заметного влияния на массу этих органов (табл. 3). При введении водного извлечения в дозах в 0,1 и 0,22 мл самкам гонадотропного действия не отмечено. Доза в 0,34 мл способствовала уменьшению веса матки и яичников на 3,4% по отношению к контролю). Следует отметить, что вес животных в этой группе уменьшился на 22% (табл. 4).

**Обсуждение полученных данных.** Препараты из борщевиков оказались менее токсичными по сравнению с широко используемым в России препаратом седативного действия «диазепам» ( $LD_{50} = 25,5$  мг/кг, при внутрибрюшинном введении мышам) [8]. Таким образом, результаты определения острой токсичности при интрагастральном введении животным позволяют отнести настойки водного извлечения из этих растений к малотоксичным препаратам.

При введении препарата из борщевика Сосновского неполовозрелым самцам в дозе 0,34 мл наблюдалось андрогенное действие, при той же дозе определялось гонадотропное действие у самок. При вскрытии мышей существенных изменений в других органах не отмечено.

Андрогены и эстрогены коры надпочечников играют значительную роль в развитии половых органов в раннем возрасте, то есть на том этапе онтогенеза, когда внутрисекреторная функция половых желез еще незначительна [11]. По данным некоторых авторов, при введении гонадотропных гормонов гипофиза кастратам не наблюдалось характерных физиологических эффектов, обнаруженных у неполовозрелых животных. Это доказывает то, что половое созревание, сопровождающееся увеличением размеров половых органов и появлением вторичных половых признаков, является результатом действия гормонов на половые железы [6]. Причиной описанных эффектов являются гормоны, образуемые половыми железами, а не гонадотропины гипофиза [7].

В наших опытах на неполовозрелых животных исследовалось влияние гонадотропных гормонов гипофиза

и половых гормонов коры надпочечников, так как мыши были неполовозрелыми. Произошедшие изменения веса семенных пузырьков, предстательной железы, семенников, матки и яичников могут служить доказательством гонадотропного действия извлечений из борщевика Сосновского (водное извлечение из борщевика Меллендорфа в указанных дозах не действовало на половые железы животных и в работе не приведено).

#### Литература

1. Альтгаузен А.Я. Лабораторно-клинические исследования. М.: Медицина, 1964. 332 с.
2. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Госмедиздат, 1963. 152 с.
3. Бойкова В.В., Акулова З.В. Влияние настоек некоторых лекарственных растений на овуляторную функцию экспериментальных животных. // Раст. ресурсы. 1995. Т. 31, № 2. С. 57–60.
4. Булашевич М.Е. Использование эстрогенных веществ при откорме жвачных животных // Животноводство. 1956. № 4. С. 63–66.
5. Виблинг Х. Содержание эстрогенов в травах и их влияние на плодovitость коров // Сб. иностр. с.-х. информации. 1955. № 3. С. 23–24.
6. Кириллов О.И. Клеточные механизмы стресса. Владивосток: Дальневост. кн. изд-во, 1973. 140 с.
7. Курмуков А.Г., Ахмедходжаева Х.С., Сидякин В.Г., Сыров В.Н. Фитоэстрогены из растений Средней Азии // Раст. ресурсы. 1976. Т. 12, № 4. С. 515–525.
8. Мебикар: дневной транквилизатор широкого применения. М.: Союзфармация, 1990. 45 с.
9. Нейроэндокринология. Ч. 2 / под ред. А.Л. Поленова. СПб.: Наука, 1994. 302 с.
10. Рощевский М.П., Черных Н.А., Тумакова Н.М. Физиологическое состояние молочного скота при кормлении его силосом из новых для севера культур // Мат. 3-го симпозиума по новым силосным растениям. Сыктывкар, 1965. С. 106–108.
11. Физиология человека / Бабский Е.Б., Зубков А.А., Косицкий Г.И., Ходоров Б.И. М.: Медицина, 1966. 658 с.
12. Чернышева М.П. Гормоны животных. Введение в физиологическую эндокринологию. СПб.: Глаголь, 1995. 296 с.
13. Шиманов В.Г., Горячев В.С. Гормональная активность кормовых растений // Материалы 3-го симпозиума по новым силосным растениям. Сыктывкар, 1966. С. 360–364.
14. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 18.03.1986. URL: <http://conventions.coe.int/Treaty/en/Treaties/Html/123.htm> (дата обращения – 12.11.2012).
15. Spinedi E., Negro-Vilar A. Angiotensin II and ACTH release: site of action and potency relative to corticotropin releasing factor and vasopressin // Neuroendocrinology. 1963. Vol. 37. P. 446–453.

Поступила в редакцию 22.01.2013.

#### BIOLOGICAL ACTIVITY OF COW PARSNIP

D.M. Chernyak

The V. L. Komarov Mountain-Taiga Station, FEB RAS (26 Solnechnaya St. Gorno-Tayozhnoye village Primorsky Krai 692533 Russian Federation)

**Summary** – The experiment conducted on white mice has allowed studying biological activity of Sosnovsky cow parsnip (introducent) and Mellendorf cow parsnip (representative of indigenous flora known to occur in the south areas of Primorsky Krai) for toxicity and gonadotrophic effects. As reported, the toxicity of water-based extract of Sosnovsky cow parsnip and Mellendorf cow parsnip reach 1.07 ml/20 g of a mouse and 1.83 ml/20 g of a mouse, respectively. Sosnovsky cow parsnip-derived extract exhibits androgynous effects.

**Key words:** Sosnovsky cow parsnip, Mellendorf cow parsnip, toxicity, gonadotrophic effects.

Pacific Medical Journal, 2013, No. 2, p. 70–72.