

Крупина Н.А., Орлова И.Н., Лукьянова Л.Д.

Влияние курсового применения биологически активного флавоноидсодержащего растительного препарата Экстралайф на уровень тревожности и сенсомоторную реактивность крыс

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

Клинико-эпидемиологические данные свидетельствуют о необходимости поиска средств терапии и профилактики состояний с повышенной тревожностью, связанных с эмоциональными и невротическими срывами и ухудшающих клинический прогноз психосоматических заболеваний. Особый интерес представляют лекарственные препараты растительного происхождения, длительный прием которых, как правило, хорошо переносится, а лечение дешевле по сравнению с лечением современными анксиолитиками. Цель настоящего исследования заключалась в изучении эффектов курсового приема флавоноид-содержащего препарата экстралайф растительного происхождения (водорастворимый экстракт *Pentaphylloides fruticosa*, 40 мг/кг в сутки, в течение 1 месяца) у «тревожных» и «нетревожных» беспородных белых крыс, выделенных в популяции путем отбора с помощью многопараметрового метода комплексной оценки тревожно-фобических состояний. Этим методом также оценивали выраженность тревожности (ситуационной тревоги) у крыс в динамике обследования. Сенсомоторную реактивность (эмоциональность) оценивали по характеристикам акустического стартл-ответа. Экстралайф не предотвращал увеличение ситуационной тревоги у «нетревожных» крыс и не изменял уровень тревожности у «тревожных» животных. Однако препарат снижал амплитуду акустического стартл-ответа у «тревожных» крыс и увеличивал латентность стартл-ответа как у «тревожных», так и у «нетревожных» животных, то есть уменьшал проявления вызываемой звуковым раздражителем тревоги по показателям сенсомоторной реактивности. Данные свидетельствуют о наличии у препарата экстралайф анксиолитического и успокаивающего действия. Эффект был более выражен у «тревожных» животных. У «нетревожных» крыс на фоне приема препарата отмечено транзитное снижение предстимульного торможения акустического стартл-ответа, что может быть связано с возникновением преходящих нарушений в психоэмоциональной сфере. Полученные данные свидетельствуют о том, что экстралайф в условиях курсового приема может оказывать негативное побочное действие на эмоциональность «нетревожных» животных, что определяет необходимость учета особенностей психоэмоционального статуса индивидуума при разработке терапевтических подходов к коррекции повышенной тревожности с включением этого препарата.

Ключевые слова: крысы; тревожно-фобический уровень; флавоноид-содержащий растительный препарат экстралайф; курсовой прием; сенсомоторная реактивность; акустический стартл-ответ

Krupina N.A., Orlova I.N., Lukyanova L.D.

Effect of course intake of bio-active flavonoids-containing plant preparation Extralife on the level of anxiety and sensorimotor reactivity in rats

Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», 8, Baltiiskaya str., 125315, Moscow, Russia

Clinical and epidemiological data evidence the need to search for new substances for treatment and prevention of increased anxiety associated with emotional and neurotic breakdown and worsening clinical prognosis of psychosomatic diseases. Of particular interest are the drugs of plant origin, which are generally well tolerated under prolonged use, and treatment is cheaper as compared with modern anxiolytics. The purpose of this study was to investigate the effects of course taking a flavonoid-containing plant preparation Extralife (water-soluble extract *Pentaphylloides fruticosa*, 40 mg/kg per day for 1 month) in «anxious» and «non-anxious» inbred albino rats sampled in the population using a multi-parameter method for evaluating anxiety-phobic states. This method was also used for evaluating the severity of anxiety (state anxiety) in rats in the dynamics of the survey. Sensorimotor reactivity (emotionality) was assessed by the parameters of the acoustic startle response. Extralife did not prevent the increase in state anxiety in «non-anxious» rats and did not change the level of anxiety in the «anxious» animals. However, the drug reduced the amplitude of the acoustic startle response in the «anxious» animals and increased startle response latency in both «anxious» and «non-anxious» rats, that is reduced the symptoms of anxiety caused by alarm sound stimuli in terms of sensorimotor reactivity. The data testify to the anxiolytic and sedative effects of Extralife more pronounced in the «anxious» animals. In a course intake of Extralife

«non-anxious» rats demonstrated transient decrease in the pre-pulse inhibition of the acoustic startle response, probably associated with the occurrence of transient disturbances in the psycho-emotional sphere. The findings suggest that Extralife in a course taking may have negative side effects on the emotionality of «non-anxious» animals that determines the need to incorporate the features of mental and emotional status of the individual in the development of therapeutic approaches to the correction of high anxiety with the inclusion of the drug.

Key words: rats; anxiety-phobic level; flavonoid-containing plant preparation Extralife; course intake; sensorimotor reactivity; acoustic startle response

Тревожность в обобщенном понимании специалистов-психологов и нейрофизиологов — это переживание эмоционального дискомфорта, повышенного беспокойства и настороженности, связанное с ожиданием неблагоприятия, с предчувствием угрозы или неудачи в специфических социальных ситуациях [1—3]. Тревожность является формой эмоционального реагирования, входящей в репертуар нормальной поведенческой активности животных и человека. Принято выделять личностную тревожность, характеризующую индивидуум (врожденное свойство личности), и ситуативную тревожность (связанную с конкретной внешней ситуацией). Усиление тревожности до степени, неадекватной внешним воздействиям, характерно для целого ряда расстройств психоневрологического спектра [3, 4]. Очень высокая личностная тревожность прямо коррелирует с наличием невротического конфликта, с эмоциональными и невротическими срывами и психосоматическими заболеваниями [5]. Высокий уровень тревожности, как личностной, так и ситуативной, влияет на развитие и течение психосоматических заболеваний [6], ухудшая клинический прогноз. Расстройства эмоциональной регуляции, проявляющиеся ростом тревожности, могут приводить к нарушениям социального поведения, в частности, к росту агрессии [7].

Клинико-эпидемиологические данные свидетельствуют об острой необходимости поиска методов и средств терапии и профилактики состояний с повышенной тревожностью, для чего в настоящее время используются различного рода анксиолитики, имеющие, как правило, нежелательные побочные эффекты. В то же время лекарственные препараты из растений, как правило, безвредны, хорошо переносятся, могут назначаться длительное время, а лечение ими дешевле, чем синтетическими препаратами [8, 9]. Кроме того, растительные препараты, как правило, обладают широким спектром фармакологической активности, который может быть обусловлен наличием в их составе большого количества биологически активных полифенольных соединений (биофлавоноидов) [10].

Обязательным этапом поиска новых фитопрепаратов с анксиолитическим действием являются доклинические исследования [11]. Ранее мы разработали метод комплексной оценки тревожно-фобических состояний у крыс [12], который дает возможность выделять в популяции животных с высоким и низким тревожно-фобическим уровнем. Результаты фармакологического анализа позволяют рассматривать особей с высоким тревожно-фобическим уровнем в качестве естественной модели повышенной тревожности у крыс [13]. Повышенная тревожность и страх усиливают сенсомоторную реактивность (показатель эмоциональности) по показателям стартл-ответа у людей и животных [14—17], поэтому оценка характеристик реакции вздрагивания, в частности, в акустическом стартл-рефлексе, рекомендована для скрининга потенциальных анксиолитиков в доклинических исследованиях [18, 19].

Ранее нами было показано, что экстракт курильского чая (лат. *Pentaphylloides fruticosus*, Лапчатка кустарниковая) — экстралайф (ЭЛФ) — обладает седативными, анксиолитическими и антидепрессивными свойствами [20]. Целью настоящей работы было исследование эффектов курсового применения экстралайфа на уровень тревожности и характеристики сенсомоторной реактивности в акустическом стартл-рефлексе у крыс с высоким и низким тревожно-фобическим уровнем.

Методика

Работа проведена на 36 беспородных белых крысах, достигших возраста 3—4 мес. в начале исследования. Крысы содержались в стандартных условиях вивария по 5 особей в клетке с естественной сменой освещенности и свободным доступом к пище и воде. Все процедуры и эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ №708н от 23.08.2010 г.

Оценка тревожно-фобического уровня у крыс. Метод комплексной оценки тревожно-фобических состояний у крыс [12] основан на интегральной количественной оценке изменения видоспецифических поведенческих ответов у крыс в серии этологически адекватных тест-стимулов, моделирующих мягкое

Для корреспонденции: Крупина Наталья Александровна, д.биол.н., гл. науч. сотр., лаб. общей патологии нервной системы, e-mail: krupina-na@yandex.ru

стрессогенное воздействие, которое провоцирует проявление состояний тревожности и страха у животных.

После первого обследования по шкале для оценки тревожно-фобических состояний (за 2 недели до начала применения ЭЛФ) животных разделяли на крыс с низким уровнем тревожности (условно «нетревожные», набравшие <8 баллов) и высоким уровнем тревожности (условно «тревожные», набравшие ≥ 8 баллов, — собственно, естественная модель повышенной тревожности). Учитывая, что оценку эмоционального состояния животных проводили в ситуациях мягкого стрессирования, рассчитанный в баллах тревожно-фобический уровень фактически является результатом аддитивности врожденного тревожно-фобического уровня и уровня ситуационной тревожности в ответ на действие внешних факторов. Изменение тревожно-фобического уровня у крыс оценивали через 2 и 4 нед. применения ЭЛФ, а также через 2 нед. после отмены препарата. Для обследования животных брали группами по 5 крыс в каждой. В состав каждой группы входили как «нетревожные», так и «тревожные» животные.

Оценка двигательной и исследовательской активности крыс. Оценку двигательной (по числу пересеченных квадратов) и исследовательской (по числу стоек) активности у животных проводили суммарно за 3 мин наблюдения в стандартном тесте «открытого поля» [12]. Обследование крыс проводили за 2 нед. до начала применения ЭЛФ, через 2 и 4 нед. его применения, а также через 2 нед. после отмены ЭЛФ.

Сенсомоторную реактивность оценивали по показателям АСО. Измерение параметров стартл-ответа проводили в модульной установке «STARTLE RESPONSE SYSTEM» для автоматизированной оценки сенсомоторной реактивности одновременно у двух крыс на IBM PC/AT с оригинальным программным обеспечением для сбора и первичной обработки сигналов («Coulbourn Instruments», USA), как описано ранее [14]. В качестве модулирующего предстимульного и основного стимулирующего сигналов использовали вспышки белого шума со следующими характеристиками: предстимульный сигнал — 20 мс, 80 дБ (подпороговое значение); основной сигнал — 40 мс, 120 дБ (сверхпороговое значение).

Амплитуду и латентность АСО, характеризующие, соответственно, эффективность и скорость передачи сигнала в нервной цепи акустического стартл-рефлекса, определяли автоматически, по максимальному напряжению, пропорциональному скорости смещения пьезоэлектрического акселерометра платформы, и по времени достижения максимального пика АСО в течение 200-мс интервала с момента по-

дачи основного сигнала. Тестирование заключалось в предъявлении крысам после 60-секундного адаптационного периода серии из чередующихся в случайном порядке 30 сигналов двух типов: первый тип — только основной сигнал (оценивали показатели ответа — амплитуда A_1 , усл.г; латентность L_1 , мс); второй тип — последовательность модулирующего и основного сигналов, интервал между которыми составлял 100 мс (оценивали показатель ответа — амплитуда A_2 , усл.г; латентность L_2 , мс). Интервалы между сигналами двух типов были рандомизированы (в пределах от 20 до 40 с, средний интервал составлял $30,1 \pm 1,2$ с). Для каждого животного автоматически рассчитывали средние величины A_1 , L_1 , A_2 и L_2 по 15 предъявлениям каждого типа сигнала. Время принудительной вентиляции камеры составляло 10 с после каждого предъявления сигнала первого или второго типа.

Относительная величина снижения амплитуды стартл-ответа на сверхпороговый сигнал в условиях его предшествующей модуляции подпороговым сигналом характеризует так называемое предстимульное торможение (ПСТ), которое является самостоятельной физиологической характеристикой стартл-ответа, опосредуется активным тормозным процессом в ЦНС [21] и изменяется при нарушениях психической деятельности [22]. По величине ПСТ можно судить об эффективности процессов фильтрации входного сигнала, то есть об эффективности функционирования сенсомоторного входа — процессов, вносящих вклад в способность фокусировать внимание [23], что необходимо для осуществления различных видов когнитивной деятельности. Расчет ПСТ для каждого животного проводили по следующей формуле: $\text{ПСТ}(\%) = 100\% - A_2/A_1 \cdot 100\%$, где A_1 и A_2 — усредненные величины ответа на сигналы первого и второго типов, величина A_1 принята за 100%. Рассчитывали средние значения ПСТ в группах.

Оценку сенсомоторной реактивности осуществляли в динамике обследования: за 2 недели до начала применения ЭЛФ, через 2 и 4 недели его применения, а также через 2 и 4 недели после отмены ЭЛФ.

Курсовое введение ЭЛФ. В течение месяца крыс поили водным раствором ЭЛФ, приготовленным из расчета примерного его потребления в дозе 40 мг/кг в сут; контрольных крыс поили водой. По результатам первичного обследования по шкале для оценки тревожно-фобических состояний крысы были разделены на 2 группы «тревожных» и «нетревожных» животных, каждая из которых, в свою очередь, была разделена на 2 подгруппы: контрольную (питье воды) и опытную (питье водного раствора ЭЛФ). Подгруппы были сформированы таким образом, чтобы исходные средние величины уровня тревожности,

двигательной активности, амплитуды А1, латентности М1 и ПСТ в акустическом стартл-рефлексе у крыс в соответствующих по величине уровня тревожности подгруппах не различались. В итоге, были сформированы следующие 4 подгруппы животных:

- 1) «тревожные», ЭЛФ (n = 9);
- 2) «тревожные», контроль (n = 9);
- 3) «нетревожные», ЭЛФ (n = 9);
- 4) «нетревожные», контроль (n = 9).

Статистическую обработку данных проводили по алгоритмам программы «STATISTICA for Windows 6.0». Предварительная проверка по критерию Колмогорова—Смирнова выявила соответствие распределения эмпирических данных нормальному закону, на основании чего статистический анализ проводили с использованием параметрических критериев: для выявления влияния факторов «Тревожность» (исходно «тревожные»/исходно «нетревожные» животные), «Группа» (контроль/ЭЛФ) и «Повторные измерения» (динамика обследования) использовали многофакторный дисперсионный анализ, для выявления различий при повторных измерениях в каждой группе применяли однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений REPEATED MEASURES ANOVA с последующим множественным попарным сравнением средних значений в рядах дисперсионного комплекса по Fisher LSD тесту, для сравнения двух независимых групп использовали непарный параметрический t-критерий Стьюдента при принятом 5%-ном уровне значимости.

Результаты и обсуждение

Динамика тревожности и ориентировочно-исследовательской деятельности

По результатам многофакторного анализа выявлено влияние фактора «Повторные измерения» ($F = 21,5$; $p < 0,001$) и фактора «Тревожность» ($F = 16,1$; $p < 0,001$) на динамику тревожности в подгруппах. Установлено взаимодействие этих факторов

($F = 14,4$; $p < 0,001$). По результатам однофакторного дисперсионного анализа ЭЛФ не изменял уровень тревожности у «тревожных» животных в динамике обследования [ЭЛФ: $F(3,24) = 1,833$, $p = 0,168$; контроль: $F(3,24) = 0,139$, $p = 0,936$] и не предотвращал увеличение тревожно-фобического уровня у «нетревожных» крыс [ЭЛФ: $F(3, 24) = 22,987$; $p < 0,001$; контроль: $F(3, 24) = 24,242$, $p < 0,001$] (табл. 1).

По результатам многофакторного анализа выявлено влияние фактора «Повторные измерения» ($F = 13,8$; $p < 0,001$) на динамику двигательной активности в подгруппах, влияние фактора «Тревожность» не достигло уровня статистической значимости ($F = 3,6$; $p = 0,066$). Однако установлено взаимодействие этих факторов ($F = 3,7$; $p = 0,014$).

По результатам однофакторного дисперсионного анализа ЭЛФ в условиях курсового применения не влиял на двигательную активность «тревожных» крыс [ЭЛФ: $F(3,24) = 2,269$, $p = 0,106$; контроль: $F(3,24) = 0,822$, $p = 0,494$] и не предотвращал характерное для контрольных «нетревожных» животных снижение двигательной активности [ЭЛФ: $F(3,24) = 3,663$, $p = 0,026$; контроль: $F(3,24) = 15,647$, $p < 0,001$] (табл. 2). Через 2 нед. после отмены ЭЛФ двигательная активность «нетревожных» крыс, в отличие от контроля, не повышалась.

По результатам многофакторного анализа выявлено влияние фактора «Повторные измерения» ($F = 25,9$; $p < 0,001$) на динамику исследовательской (вертикальной) активности в подгруппах. Влияние фактора «Тревожность» не достигло уровня статистической значимости ($F = 2,9$; $p = 0,101$). Установлено взаимодействие факторов «Повторные измерения» и «Тревожность» ($F = 3,4$; $p = 0,021$), а взаимодействие факторов «Группа» и «Тревожность» не достигло уровня статистической значимости ($F = 3,5$; $p = 0,071$). По результатам однофакторного дисперсионного анализа курсовое применение ЭЛФ препят-

Таблица 1

Изменение уровня тревожности у «тревожных» и «нетревожных» крыс в процессе курсового применения экстралайфа в сравнении с контролем

Срок обследования (прием ЭЛФ или воды)	Тревожно-фобический уровень (в баллах)			
	"Тревожные"		"Нетревожные"	
	Контроль (n = 9)	ЭЛФ (n = 9)	Контроль (n = 9)	ЭЛФ (n = 9)
До приема	10,3 ± 0,6	9,7 ± 0,6	4,5 ± 0,7	4,3 ± 0,4
2 недели потребления	10,7 ± 0,8	9,6 ± 0,8	8,4 ± 0,8 #	8,0 ± 1,0 #
4 недели потребления	10,7 ± 0,9	11,2 ± 0,6	8,4 ± 0,7 #	9,7 ± 1,1 #
2 недели после отмены	10,5 ± 0,8	9,5 ± 1,0	8,2 ± 0,8 #	9,6 ± 0,8 #

Примечание. # $p < 0,05$ — по сравнению с исходным значением показателя в данной подгруппе (однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений с апостериорным сравнением по Fisher LSD тесту); n — число животных в группе.

ствовало снижению исследовательской активности у «тревожных» крыс [ЭЛФ: $F(3,24) = 2,335$, $\rho = 0,099$; контроль: $F(3,24) = 8,371$, $\rho = 0,001$] и не предотвращало снижения исследовательской активности у «нетревожных» животных [ЭЛФ: $F(3,24) = 5,993$, $\rho = 0,003$; контроль: $F(3,24) = 12,563$, $\rho < 0,001$] на протяжении всего периода приема препарата, а также после его отмены (табл. 3).

Динамика сенсомоторной реактивности (эмоциональности)

По результатам многофакторного анализа дисперсионного комплекса выявлено влияние фактора «Повторные измерения» для показателей А2, ПСТ и Л1 (соответственно, $F = 3,2$; $3,0$; $4,6$ и $\rho = 0,016$; $0,022$; $0,002$). Влияние этого фактора для показателя А1 не достигло уровня статистической значимости ($F = 2,1$; $\rho = 0,080$). Наблюдалась тенденция к взаимодействию факторов «Группа» и «Тревожность» для показателя ПСТ ($F = 2,2$; $\rho = 0,146$).

В подгруппе «тревожных» крыс, потреблявших ЭЛФ, обнаружена выраженная тенденция к снижению амплитуды модулированного АСО А2 [$F(4,32) = 2,103$, $\rho = 0,103$; здесь и далее

REPEATED MEASURES ANOVA] и статистически значимое увеличение латентности модулированного АСО А2 [$F(4,32) = 2,872$, $\rho = 0,039$] на протяжении всего периода наблюдения (рис. 1, 2). В контрольной подгруппе «тревожных» крыс, потреблявших воду, в динамике обследования не обнаружено изменений ни по одному из показателей АСО. Через 2 недели от начала потребления ЭЛФ амплитуды АСО А1 и А2 были статистически значимо меньше соответствующего контрольного уровня, а латентность А2 спустя 2 недели после отмены ЭЛФ, напротив, превышала контрольное значение.

В подгруппе подопытных «нетревожных» крыс спустя месяц потребления ЭЛФ обнаружено снижение величины ПСТ [$F(4,32) = 2,911$; $\rho = 0,037$] (рис. 3) и увеличение латентности немодулированного АСО Л1 [$F(4,32) = 3,209$; $\rho = 0,025$] (рис. 2). ПСТ восстанавливалось до исходных значений спустя месяц после отмены приема ЭЛФ, тогда как латентность немодулированного АСО оставалась повышенной относительно исходной величины в течение месяца наблюдения после отмены ЭЛФ. В соответствующей контрольной группе не выявлено статистически значимых изменений ни по одному из показателей, однако отмечена тенденция к снижению ампли-

Таблица 2

Изменение двигательной активности у «тревожных» и «нетревожных» крыс в процессе курсового применения экстралайфа в сравнении с контролем

Срок обследования (прием ЭЛФ или воды)	Двигательная активность (число пересеченных квадратов)			
	"Тревожные"		"Нетревожные"	
	Контроль (n = 9)	ЭЛФ (n = 9)	Контроль (n = 9)	ЭЛФ (n = 9)
До приема	13,8 ± 3,8	20,6 ± 6,4	38,1 ± 4,4	30,0 ± 8,5
2 недели потребления	13,1 ± 3,7	11,2 ± 2,5	18,6 ± 4,5 # *	11,6 ± 4,6#
4 недели потребления	10,7 ± 3,9	8,3 ± 2,0	9,1 ± 2,3 #	12,8 ± 6,1#
2 недели после отмены	8,8 ± 3,3	11,8 ± 3,0	20,0 ± 5,8 # *	6,0 ± 2,8 #+

Примечание. # $p < 0,05$ — по сравнению с исходным значением показателя в данной подгруппе; + $p < 0,05$ — по сравнению с соответствующим контрольным значением на том же сроке обследования (непарный параметрический t-критерий Стьюдента); * $p < 0,001$ — по сравнению со значением показателя в данной подгруппе через 4 недели потребления (однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений с апостериорным сравнением по Fisher LSD тесту); n — число животных в группе.

Таблица 3

Изменение исследовательской активности у «тревожных» и «нетревожных» крыс в процессе курсового применения экстралайфа в сравнении с контролем

Срок обследования (прием ЭЛФ или воды)	Исследовательская активность (число стоек)			
	"Тревожные"		"Нетревожные"	
	Контроль (n = 9)	ЭЛФ (n = 9)	Контроль (n = 9)	ЭЛФ (n = 9)
До приема	6,2 ± 0,9	6,1 ± 1,1	12,6 ± 1,6	8,4 ± 2,3
2 недели потребления	1,7 ± 0,5 #	3,4 ± 1,3	3,4 ± 1,1 #	3,7 ± 1,7 #
4 недели потребления	2,1 ± 0,9 #	3,8 ± 1,4	3,0 ± 1,0 #	2,7 ± 0,9 #
2 недели отмены	1,7 ± 0,9 #	3,7 ± 0,8	5,8 ± 2,1 #	1,6 ± 0,6 #

Примечание. # $p < 0,05$ по сравнению с исходным значением показателя в данной подгруппе (однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений с апостериорным сравнением по Fisher LSD тесту); n — число животных в группе

туды и увеличению латентности немодулированного АСО [соответственно, А1: $F(4,32) = 2,158$; $p = 0,096$ и Л1: $F(4,32) = 2,146$; $p = 0,098$].

Таким образом, ответ «тревожных» и «нетревожных» крыс на курсовой прием ЭЛФ по показателям ориентировочно-исследовательской деятельности и сенсомоторной реактивности оказался различным.

Как сказано выше, процедура обследования по шкале для оценки тревожно-фобических состояний предполагает действие на крыс ряда мягких стресс-раздражителей. Ранее нами показано, что многократное обследование по шкале с интервалом не менее недели приводит к повышению тревожно-фобического уровня у «нетревожных» крыс Вистар,

подвергнутых депрессогенному воздействию, и не изменяет уровень тревожности у исходно «нетревожных» контрольных крыс [24]. В настоящей работе при двухнедельном интервале обследования мы выявили стойкое увеличение уровня тревожности у беспородных «нетревожных» крыс как опытной, так и контрольной подгрупп. Вероятно, чувствительность линейных и беспородных «нетревожных» крыс к процедуре многократного обследования в батарее тестов, моделирующих мягкое стресс-воздействие, различается, что может быть связано с особенностями генетически обусловленных изменений активности стресс-лимитирующих систем в процессе адаптации этих животных [25].

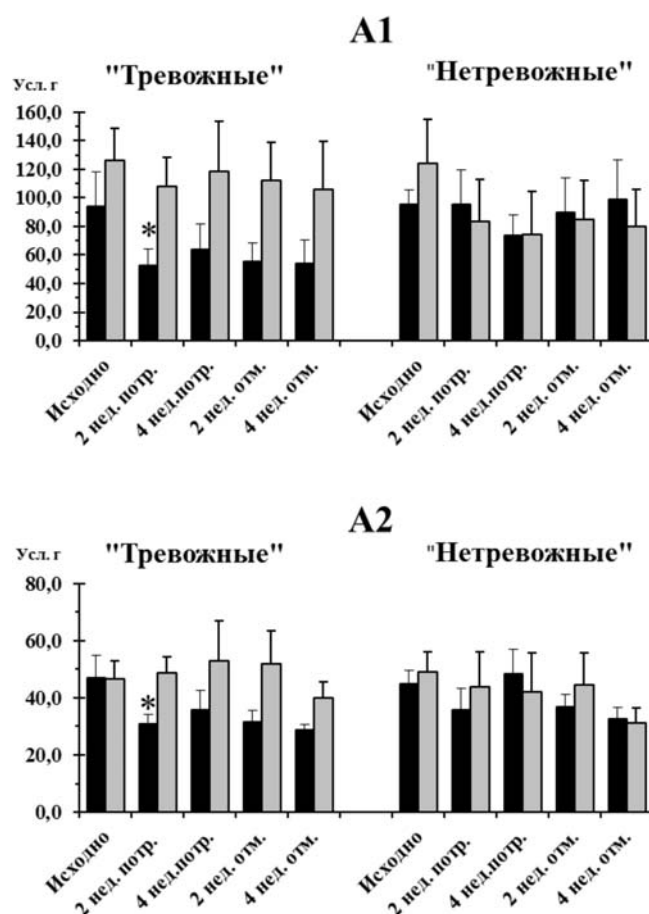


Рис. 1. Амплитуда немодулированного (А1) и модулированного (А2) акустического стартл-ответа у «тревожных» и «нетревожных» крыс на фоне курсового приема ЭЛФ и после его отмены в сравнении с контролем (питье воды).

Черные столбики — питье раствора ЭЛФ, опыт; серые столбики — питье воды, контроль.

2 нед.потр. — 2 недели потребления; 4 нед.потр. — 4 недели потребления; 2 нед.отм. — 2 недели отмены; 4 нед.отм. — 4 недели отмены. По оси ординат — амплитуда АСО, усл.г.

* $p < 0,05$ — по сравнению с соответствующим контрольным значением на том же сроке обследования (непарный параметрический t-критерий Стьюдента).

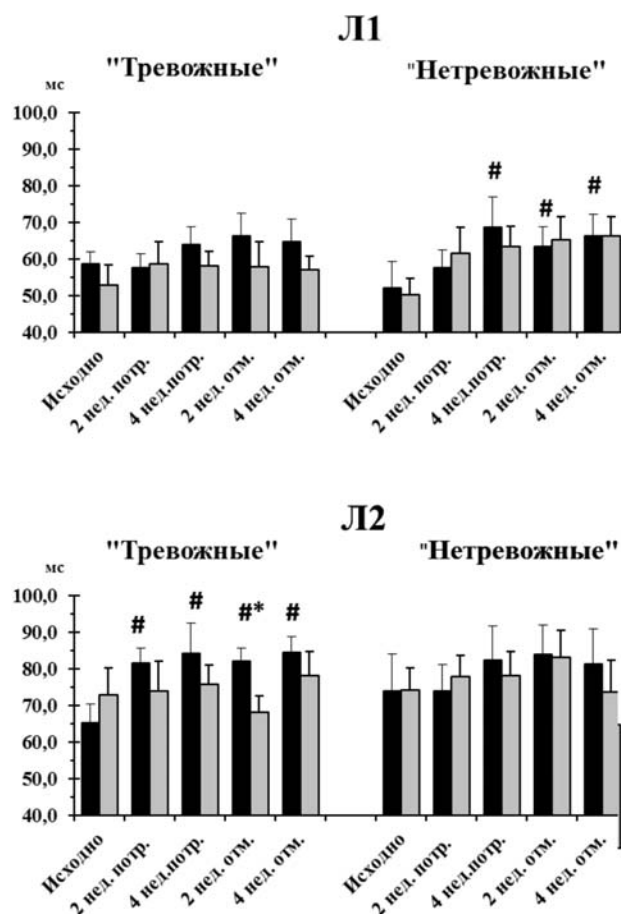


Рис. 2. Латентность немодулированного (Л1) и модулированного (Л2) акустического стартл-ответа у «тревожных» и «нетревожных» крыс на фоне курсового приема ЭЛФ и после его отмены в сравнении с контролем (питье воды).

По оси ординат — латентность АСО, мс. Остальные обозначения как на рис. 1.

$p < 0,05$ — по сравнению с исходным значением показателя в данной подгруппе крыс (однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений с последующим Fisher LSD тестом); * $p < 0,05$ — по сравнению с соответствующим контрольным значением на том же сроке обследования (непарный параметрический t-критерий Стьюдента).

В пользу представлений о стрессорирующем эффекте процедуры многократного обследования у беспородных «нетревожных» крыс свидетельствовало также угнетение у контрольных животных ориентировочно-исследовательской деятельности, проявлявшееся снижением как двигательной, так и исследовательской активности. Такое угнетение нельзя объяснить лучшим по сравнению с «тревожными» животными привыканием к обследованиям в «открытом поле», так как оно сопровождалось ростом ситуационной тревожности. ЭЛФ не влиял на уровень ситуационной тревожности и показатели ориентировочно-исследовательской деятельности у «нетревожных» крыс, что позволяет прийти к заключению об отсутствии антистрессорного действия препарата у особей с низким тревожно-фобическим уровнем. У «тревожных» крыс в динамике обследования уровень тревожности и двигательной активности не изменялся, тогда как исследовательская активность снижалась, и курсовое применение ЭЛФ предотвращало это снижение. Возможно, снижение вертикальной активности связано с развитием процессов неассоциативного обучения — привыкания. Однако этому противоречат данные об отсутствии снижения локомоций и уровня тревожности в динамике обследования у исходно «тревожных» крыс. По совокупности данных нельзя исключить связь снижения исследовательской активности с ответом на стресс-воздействие при многократном обследовании, и в таком случае эффекты ЭЛФ у «тревожных» крыс следует рассматривать

как антистрессорные. Предположение о возможном влиянии ЭЛФ на когнитивную деятельность в зависимости от уровня тревожности особей требует специальной проверки. Тем не менее, можно говорить о том, что по эмоционально-поведенческим показателям «тревожные» крысы оказались более устойчивы к действию многократного «мягкого» стрессирования, чем «нетревожные» и, возможно, более чувствительны к антистрессорному действию ЭЛФ. В целом, отобранные по шкале для оценки тревожно-фобических состояний «тревожные» и «нетревожные» крысы представляют два разных типа реагирования в стрессогенной ситуации, подобно различающимся по устойчивости к стресс-воздействию активным и пассивным крысам, отобранным по величине индекса активности в тесте «открытого поля» [26].

Несмотря на то, что исходно «тревожные» и «нетревожные» крысы не различались по показателям АСО, только «тревожные» животные демонстрировали снижение амплитуды АСО на фоне курсового приема ЭЛФ. Известно, что увеличение стартл-ответа по показателю амплитуды АСО характерно для состояний тревожности и страха [16]. С учетом этого, уменьшение амплитуды АСО у «тревожных» крыс под влиянием ЭЛФ, отражающее снижение эмоциональной реактивности животных, с высокой вероятностью свидетельствует о наличии у препарата свойств анксиолитика. Кроме того, можно предполагать наличие у ЭЛФ седативного (успокаивающего) действия, проявляющегося у тревожных особей. На первый взгляд, в противоречие с этим заключением входит тот факт, что снижение амплитуды АСО не сопровождалось уменьшением уровня тревожности у крыс, определяемого по шкале для оценки тревожно-фобических состояний. У «нетревожных» крыс рост ситуационной тревожности при многократных обследованиях также не сопровождался увеличением амплитуды АСО как в контрольной, так и в опытной подгруппах. В качестве одного из объяснений этих кажущихся противоречий можно привлечь представления о селективности тревожных состояний, суть которых сводится к тому, что тревожность гетерогенна по структурно-функциональному базису в ЦНС, и разные ситуации выявляют различную тревожность [16, 27]. Подобная селективность, отражающая дифференцирование тревоги в зависимости от класса теста, лежит в основе многопрофильной оценки личности в клинике, а несовпадение разных шкал тревоги и полученных по ним оценок имеет самостоятельное диагностическое значение [28]. В свете этих представлений тревогу, возникающую в акустическом стартл-рефлексе при действии информационно значимых сверхпороговых сенсорных стимулов, можно называть «акустической».

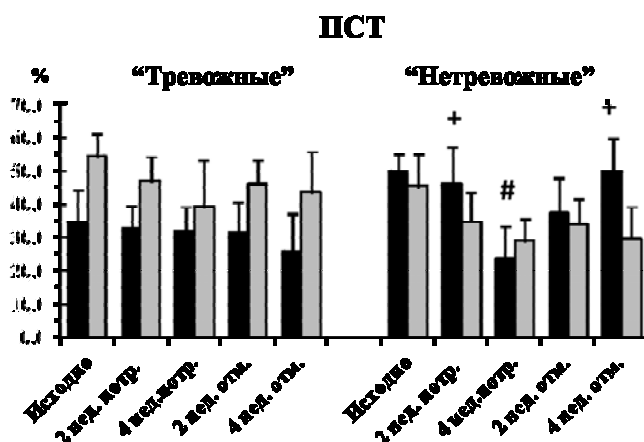


Рис. 3. Предстимульное торможение (ПСТ) акустического стартл-ответа у «тревожных» и «нетревожных» крыс на фоне курсового приема ЭЛФ и после его отмены в сравнении с контролем (питье воды).

По оси ординат — предстимульное торможение АСО, %. Остальные обозначения как на рис. 1.

$p < 0,05$ — по сравнению с исходным значением показателя в данной подгруппе крыс; + $p < 0,05$ — по сравнению со значением через 4 недели от начала потребления ЭЛФ (однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений с последующим Fisher LSD тестом).

Для «акустической» тревоги, помимо повышения амплитуды стартл-ответа, характерно также снижение его латентности, которое может быть вызвано увеличением возбудимости в слуховой коре, которая, в свою очередь, по нисходящим путям облегчает συναптическую передачу в латеральной петле, вызывая снижение латентности и увеличение частоты разрядов нейронов, отвечающих на звуковой стимул [14, 29]. Можно полагать, что увеличение латентности стартл-ответа при отсутствии роста или уменьшении его амплитуды отражает снижение проявлений страха и тревожности, связанное с уменьшением возбудимости коры мозга и проявляющееся снижением скорости передачи сигнала в нервной цепи АСО. В настоящей работе на фоне курсового приема ЭЛФ и после его отмены мы выявили стойкое возрастание латентности немодулированного АСО у «тревожных» крыс и латентности модулированного АСО у «нетревожных» животных. Приведенные данные согласуются с заключением о снижении уровня сенсомоторной реактивности (эмоциональности) под влиянием длительного потребления ЭЛФ и подтверждают сделанный на основании анализа динамики амплитуды АСО вывод о наличии у препарата анксиолитического и седативного действия.

В контексте приведенных рассуждений выявленная в нашей работе у контрольных «нетревожных» животных тенденция к снижению А1 в совокупности с тенденцией к увеличению М1 на фоне роста уровня тревожности, определяемого по шкале для оценки тревожно-фобических состояний, может отражать развитие у них адаптивного ответа, направленного на снижение эмоциональности, то есть на успокоение животных.

Известно, что срыв предстимульного торможения в акустическом стартл-рефлексе, которое, как сказано выше, характеризует состояние сенсомоторного входа, может быть вызван нарушением целого ряда нейрохимических механизмов, например, гиперактивацией дофаминергических систем, недостаточностью глутаматергической системы, гиперактивацией серотонинергической системы, а усиление ГАМК-ергических стриато-паллидарных влияний приводит к снятию эффекта снижения ПСТ АСО [22, 30]. Эти нейромедиаторные системы также вовлечены в генез тревожных состояний [31]. Обнаруженное в нашем исследовании снижение величины ПСТ у «нетревожных» крыс, принимавших ЭЛФ в течение месяца и демонстрировавших увеличение ситуационной тревожности, может отражать особенности реактивности указанных систем у животных данной подгруппы в условиях действия препарата. Выявленное у «нетревожных» крыс снижение ПСТ в условиях курсового применения ЭЛФ свидетельствует о возможности

возникновения негативных последствий его длительного потребления у некоторых особей в популяции. Полученные данные ставят вопрос о необходимости специального изучения механизмов действия ЭЛФ с учетом особенностей эмоционального статуса индивидуума.

Таким образом, курсовое применение ЭЛФ оказывает различное влияние на психофизиологические показатели сенсомоторной реактивности, характеризующие эффективность и скорость передачи сигнала в нервной цепи АСО, у «тревожных» и «нетревожных» крыс. Однако по совокупности данных можно прийти к заключению о том, что в условиях курсового применения ЭЛФ снижает сенсомоторную реактивность (эмоциональность), то есть уменьшает проявления «акустической» тревоги у крыс, проявляя анксиолитическое и успокаивающее действие, при этом эффект более выражен у животных с исходно высоким тревожно-фобическим уровнем.

Данные о нормализующем влиянии курсового применения ЭЛФ на уровень «акустической» тревоги получены на модели повышенной тревожности у крыс как варианте нормы в популяции, что открывает перспективы применения препарата как регулятора уровня эмоциональности с обязательным учетом особенностей психоэмоционального статуса индивидуума.

Список литературы

1. Изард К. Психология эмоций. К. Изард. СПб.: Питер, 2003; 464 с.
2. Немов Р.С. Общие основы психологии. М., 4-е изд.: Гуманит. изд. центр ВЛАДОС, 2003; Кн. 1: 688 с.
3. Davis M., Walker D.L., Miles L., Grillon C. Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*. 2010; 35(1): 105-35.
4. Мосолов С.Н. Тревога и депрессия: проблемы диагностики и терапии. *Психофармакотерапия депрессии*. 2005; 4: 1-15.
5. Батаршев А.В. Базовые психологические свойства и самоопределение личности: Практическое руководство по психологической диагностике. СПб.: Речь; 2005; 44-9.
6. Аведисова А.С. Тревожные расстройства. В кн.: Александровский Ю.А. (ред.) Психические расстройства в общей медицинской практике и их лечение. М.: ГЕОТАР-МЕД; 2004; 66-73.
7. Kohn S.R., Asnis G.M. Aggression in Psychiatric disorders // In: Mattson M.P., editor. *Neurobiology of aggression: Understanding and preventing violence*. Humana Press, Inc; Totowa, 2003: 135-49.
8. Kong J.-M., Goh N.-K., Chia L.-S., Chia T.-F. Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacol. Sin*. 2003;24 (1): 7-21.
9. Sarris J., McIntyre E., Camfield D.A. Plant-based medicines for anxiety disorders, part 2: a review of clinical studi-

es with supporting preclinical evidence. *CNS Drugs*. 2013; 27(4): 300-19. doi: 10.1007/s40263-013-0059-9.

10. Sankari S.L., Babu N.A., Rani V., Priyadharsini C., Masthan K.M. Flavonoids — Clinical effects and applications in dentistry: A review. *J. Pharm Bioallied Sci*. 2014; 6(Suppl 1): S26-S29. doi: 10.4103/0975-7406.137256.

11. Sarris J., McIntyre E., Camfield D.A. Plant-based medicines for anxiety disorders, Part 1: a review of preclinical studies. *CNS Drugs*. 2013; 27(3): 207-19. doi: 10.1007/s40263-013-0044-3.

12. Родина В.И., Крупина Н.А., Крыжановский Г.Н., Окнина Н.Б. Многопараметровый метод комплексной оценки тревожно-фобических состояний у крыс. *Журнал высшей нервной деятельности*. 1993; 43(5): 1006-17.

13. Родина В.И., Крупина Н.А., Крыжановский Г.Н. Новая естественная модель повышенной тревожности у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1993; 116(8): 127-30.

14. Крупина Н.А., Орлова И.Н., Крыжановский Г.Н., Соловьев А.Д. Изучение сенсомоторной реактивности у крыс с исходно высоким тревожно-фобическим уровнем. *Журнал высшей нервной деятельности*. 1994; 44(6): 1097-105.

15. Davis M., Antoniadis E.A., Amaral D.G., Winslow J.T. Acoustic startle reflex in rhesus monkeys: a review. *Rev. Neurosci*. 2008; 19(2-3): 171-85.

16. Grillon C. Models and mechanisms of anxiety: evidence from startle studies. *Psychopharmacology* (Berl). 2008; 199(3): 421-37. doi: 10.1007/s00213-007-1019-1.

17. Bradford D.E., Magruder K.P., Korhumel R.A., Curtin, J.J. Using the threat probability task to assess anxiety and fear during uncertain and certain threat. *J. Vis. Exp*. 2014; (91), e51905, doi: 10.3791/51905.

18. Belzung C., Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behav. Brain Res*. 2001; 125: 141-9.

19. Vogel H.G. (Ed.) *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. 3rd Edition. Springer. 2008; 2118 p.

20. Лукьянова Л.Д., Германова Э.Л., Лыско А.И. Энерготропное, адаптогенное и антигипоксическое действие флавоноидов. *Вестник ПАМН*. 2007; 2:55-61.

21. Davis M. Neurochemical modulation of sensory-motor reactivity: acoustic and tactile startle reflexes. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 1980; 4(3): 241-63.

22. Geyer M.A. The family of sensorimotor gating disorders: comorbidities or diagnostic overlaps? *Neurotox. Res*. 2006; 10(3-4): 211-20.

23. Li L., Du Y., Li N., Wu X., Wu Y. Top-down modulation of prepulse inhibition of the startle reflex in humans and rats. *Neurosci. Biobehav. Rev*. 2009; 33(8): 1157-67.

24. Крупина Н.А., Орлова И.Н., Крыжановский Г.Н. Сенсомоторная реактивность (по акустическому стартл-ответу) у крыс с экспериментальным депрессивным синдромом. *Журнал высшей нервной деятельности*. 2001; 51(1): 89-97.

25. Пшенникова М.Г. Устойчивость к повреждающим воздействиям и защитные эффекты адаптации у животных разных генетических линий. *Патогенез*. 2012; 10(1):20-6.

26. Перцов С.С., Коплик Е.В., Воложин А.И., Судakov К.В. Антистрессорное действие биологически активной добавки «душевный чай. Успокоительный». *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2007; 4:13-15.

27. Хоничева Н.М., Чабак-Гарбач Р., Крупина Н.А. Поведенческие последствия изоляции в раннем онтогенезе у крыс: селективность тревожных состояний. *Журнал высшей нервной деятельности*. 2002; 52(6): 743-9.

28. Березин Ф.Б., Мирошников М.П., Рожанец Р.В. Методика многостороннего исследования личности. М: Медицина, 1976; 176 с.

29. Huffman R.F., Henson O.W. The descending auditory pathway and acousticomotor systems: connections with the inferior colliculus. *Brain Res. Rev*. 1990; 15(3): 295-324.

30. Swerdlow N.R., Caine S.B., Braff D.L., Geyer M.A. The neural substrates of sensorimotor gating of the startle reflex: a review of recent findings and their implications. *J. Psychopharmacol*. 1992; 6: 176-90.

31. Johnson M.R., Lydiard R.B. The neurobiology of anxiety disorders. *Psychiatr. Clin. North. Am*. 1995; 18(4): 681-725.

References

1. Izard K. Psychology of emotions. K. Izard. SPb.: Piter, 2003. — 464. (In Russian)

2. Nemov R.S. General foundations of psychology. 4th ed. — M.: Gumanit. izd. centr VLADOS, 2003. — Kn. 1: 688. (In Russian)

3. Davis M., Walker D.L., Miles L., Grillon C. Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*. 2010; 35(1): 105 — 35.

4. Mosolov S.N. Anxiety and depression: problems of diagnosis and therapy. *Psihofarmakoterapija depressii*. 2005; 4: 1-15. (In Russian)

5. Batarshv A.V. Basic psychological characteristics of personality and self-determination: A practical guide to psychological diagnosis. A.V. Batarshv. SPb.: Rech'; 2005; 44-9. (In Russian)

6. Avedisova A.S. Anxiety Disorders. V kn.: Aleksandrovskij Ju.A. (red.) Mental disorders in general practice and their treatment. M.: GEOTAR-MED; 2004; 66-73. (In Russian)

7. Kohn S.R., Asnis G.M. Aggression in Psychiatric disorders. In: Mattson M.P., editor. Neurobiology of aggression: Understanding and preventing violence. Humana Press, Inc; Totowa, 2003;135-49.

8. Kong J.-M., Goh N.-K., Chia L.-S., Chia T.-F. Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacol. Sin*. 2003; 24 (1): 7-21.

9. Sarris J., McIntyre E., Camfield D.A. Plant-based medicines for anxiety disorders, part 2: a review of clinical studies with supporting preclinical evidence // *CNS Drugs*. — 2013. — 27(4): 301 — 319. doi: 10.1007/s40263-013-0059-9.

10. Sankari S.L., Babu N.A., Rani V., Priyadharsini C., Masthan K.M. Flavonoids — Clinical effects and applications in dentistry: A review. *J. Pharm Bioallied Sci*. 2014; 6(Suppl 1): S26-S29. doi: 10.4103/0975-7406.137256.

11. Sarris J., McIntyre E., Camfield D.A. Plant-based medicines for anxiety disorders, Part I: a review of preclinical studies. *CNS Drugs*. 2013; 27(3):207-219. doi: 10.1007/s40263-013-0044-3.

12. Rodina V.I., Krupina N.A., Kryzhanovskij G.N., Oknina N.B. A multiparameter method for the complex evaluation of anxiety-phobic states in rats. *Zhurn. vyssh. nervn. dejat.* 1993; 43(5): 1006-17. (In Russian)

13. Rodina V.I., Krupina N.A., Kryzhanovskij G.N. A new natural model of elevated anxiety in rats. *Bjull. jeksper. biol. i med*. 1993; 116(8): 127-130. (In Russian)

14. Krupina N.A., Orlova I.N., Kryzhanovskij G.N., Solov'ev A.D. The sensorimotor reactivity of rats with an initially high anxiety-phobia level. *Zhurn. vyssh. nervn. dejat.* 1994; 44(6): 1097-105. (In Russian)
15. Davis M., Antoniadis E.A., Amaral D.G., Winslow J.T. Acoustic startle reflex in rhesus monkeys: a review. *Rev. Neurosci.* 2008;19(2-3): 171-85.
16. Grillon C. Models and mechanisms of anxiety: evidence from startle studies. *Psychopharmacology (Berl.)* 2008; 199(3): 421-37. doi: 10.1007/s00213-007-1019-1.
17. Bradford D.E., Magruder K.P., Korhumel R.A., Curtin, J.J. Using the threat probability task to assess anxiety and fear during uncertain and certain threat. *J. Vis. Exp.* 2014;(91), e51905, doi: 10.3791/51905.
18. Belzung C., Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behav. Brain Res.* 2001; 125: 141-9.
19. Vogel H.G. (Ed.) *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*. 3rd Edition. — Springer, 2008; 2118 p.
20. Lukyanova L.D., Germanova Je.L., Lysko A.I. Energotropic, antihypoxic, and antioxidative effects of flavonoids. *Vestn. RAMN.* 2007; 2:55-61. (In Russian)
21. Davis M. Neurochemical modulation of sensory-motor reactivity: acoustic and tactile startle reflexes. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1980; 4(3): 241-63.
22. Geyer M.A. The family of sensorimotor gating disorders: comorbidities or diagnostic overlaps? *Neurotox. Res.* 2006; 10(3-4): 211-20.
23. Li L., Du Y., Li N., Wu X., Wu Y. Top-down modulation of prepulse inhibition of the startle reflex in humans and rats. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2009;33(8): 1157-67.
24. Krupina N.A., Orlova I.N., Kryzhanovskij G.N. Sensorimotor reactivity (acoustic startle response) in rats with experimental depressive syndrome. *Zhurn. vyssh. nervn. dejat.* 2001;51(1): 89 — 97. (In Russian)
25. Pshennikova M.G. Resistance to damaging influences and the protective effects of adaptation in animals of different genetic lines. *Patogenez.* 2012;10(1): 20-6. (In Russian)
26. Pertsov S.S., Koplík E.V., Volozhin A.I., Suda-kov K.V. An antistress action of a biologically active additive «nervine tea». *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija.* 2007; 4:13-5. (In Russian)
27. Khonicheva N.M., Czabak-Garbacz R., Krupina N.A. Behavioral consequences of isolation in early ontogeny in rats: selectivity of anxiety conditions. *Zhurn. vyssh. nervn. dejat.* 2002; 52(6): 743-9. (In Russian)
28. Berezin F.B., Miroshnikov M.P., Rozhanec R.V. Technique of multilateral study of personality. M: Medicina, 1976; 176 s. (In Russian)
29. Huffman R.F., Henson O.W. The descending auditory pathway and acousticomotor systems: connections with the inferior colliculus. *Brain Res. Rev.* 1990; 15(3): 295-324.
30. Swerdlow N.R., Caine S.B., Braff D.L., Geyer M.A. The neural substrates of sensorimotor gating of the startle reflex: a review of recent findings and their implications. *J. Psychopharmacol.* 1992; 6: 176-90.
31. Johnson M.R., Lydiard R.B. The neurobiology of anxiety disorders. *Psychiatr. Clin. North. Am.* 1995, 18(4): 681-725.

Поступила 16.10.14

Received 16.10.14

Сведения об авторах:

Орлова Ирина Николаевна — ст. науч. сотр. лаб. общей патологии нервной системы, канд. биол. наук
 Лукьянова Людмила Дмитриевна — доктор биол. наук, проф., член-корреспондент РАН, зав. лаб. биоэнергетики и проблем гипоксии, e-mail: ldruk@mail.ru