

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСТРАКТА ФОРЗИЦИИ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ (FORSYTHIA INTERMEDIA ZABEL.) В ПЕРИОДЕ ПОСТИШЕМИИ МОЗГА С ЦЕЛЬЮ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ

Зацепина Е.Е.¹

¹*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, e-mail: prk@pmedpharm.ru*

Настоящее экспериментальное исследование посвящено изучению воздействия экстракта, полученного из листьев форзиции, вид промежуточная (*Forsythia intermedia* Zabel.), на изменения параметров скорости кровотока мозга и систему артериального давления в постиншемическом периоде. Предварительно проведено исследование острой токсичности фракции из листьев форзиции промежуточной. Изучаемые дозы экстракта из листьев форзиции промежуточной выбраны относительно LD₅₀ (1/35, 1/75, 1/350). Экстракт (этилацетатную фракцию) из листьев форзиции промежуточной вводили профилактически в течение 7 дней однократно в дозах 10, 50 и 100 мг/кг веса лабораторных животных и на 7-й день за 45-60 минут до создания ишемии мозга. Ишемию создавали путем окклюзии сонных артерий на 10-12 минут. В контрольной серии опытов системное артериальное давление имело тенденцию к снижению через 5 минут после ишемии, и к 15-й минуте падение составило 25,8%. К 60-й минуте падение достигло 37,1% относительно исходных данных. Скорость кровотока мозга, напротив, к 5-15 минуте увеличилось на 25,8 и 3,3% соответственно, что объясняется гиперперфузией в постиншемическом периоде. Введение экстракта из листьев форзиции промежуточной в дозах 10, 50 и 100 мг/кг веса животных показало неоднозначные данные, и более выгодно в отношении постиншемического периода отмечена доза 100 мг/кг, которая в постиншемическом периоде нивелировала стадию гипоперфузии. Скорость кровотока мозга (объем) и связанное с ним артериальное давление (системное) поддерживалось практически на адекватно нормальном уровне по отношению к исходными параметрами. В качестве препарата сравнения изучали экстракт гинкго билоба в эквивалентных дозах 10, 50 и 100 мг/кг. На основании полученных данных возможно предположить защитное действие экстракта форзиции промежуточной при острой экспериментальной ишемии у лабораторных животных.

Ключевые слова: эксперимент, экстракт листьев форзиции промежуточной, экстракт гинкго билоба, лабораторные животные, мозговой кровоток, ишемия, артериальное давление.

EXPERIMENTAL STUDY OF THE POSSIBILITY OF USING AN INTERMEDIATE FORSYTHIA EXTRACT (FORSYTHIA INTERMEDIA ZABEL.) IN THE PERIOD OF POST-ISCHEMIA OF THE BRAIN FOR THE PURPOSE OF NEUROPROTECTION

Zatsepina E.E.¹

¹*The Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - a branch of the Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, e-mail: prk@pmedpharm.ru*

This experimental study is devoted to the study of the effect of an extract obtained from the leaves of *Forsythia intermedia* Zabel (*Forsythia intermedia* Zabel.) on changes in the parameters of the blood flow rate of the brain and the blood pressure system in the post-ischemic period. A preliminary study of the acute toxicity of the fraction from the leaves of *forsythia intermedia* was carried out. The studied doses of the extract from the leaves of *Forsythia intermedia* were selected relative to LD₅₀ (1/35, 1/75, 1/350). The extract (ethyl acetate fraction) from the leaves of *Forsythia intermedia* was administered prophylactically for 7 days once in doses of 10, 50 and 100 mg/kg of weight of laboratory animals, and on the 7th day 45-60 minutes before the creation of brain ischemia. Ischemia was created by occlusion of the carotid arteries for 10-12 minutes. In the control series of experiments, systemic blood pressure tended to decrease 5 minutes after ischemia, and by the 15th minute the drop was 25.8%. By the 60th minute, the drop reached 37.1% relative to the initial data. On the contrary, the blood flow rate of the brain increased by 25.8 and 3.3%, respectively, by 5-15 minutes, which is explained by hyperperfusion in the post-ischemic period. The introduction of an extract from the leaves of *forsythia intermedia* in doses of 10, 50 and 100 mg/kg of animal weight showed ambiguous data, and a dose of 100 mg/kg was noted more favorably in relation to the post-ischemic period, which leveled the stage of hypoperfusion in the post-ischemic period. The blood flow rate of the brain (volume) and the associated blood pressure (systemic) were maintained almost at an adequately normal level in relation to the initial parameters. Ginkgo biloba extract was studied as a comparison drug in

equivalent doses of 10, 50 and 100 mg/kg. Based on the data obtained, it is possible to assume the protective effect of Forsythia intermedia extract in acute experimental ischemia in laboratory animals.

Keywords: experiment, fraction of leaves of forsythia intermedia, laboratory animals, cerebral blood flow, ischemia, blood pressure.

Хронические поражения мозга в России, по данным статистики, в последнее время составляют примерно 100 на 1000 эпизодов, одним из самых распространенных хронических протеканий цереброваскулярных нарушений мозгового кровообращения является дисциркуляторная энцефалопатия, или ишемия мозга. Статистика патологий характеризуется высокой инвалидностью, увеличением летальности [1]. Цереброваскулярное нарушение мозгового кровообращения - это медленная, склонная к рецидивам патология, характеризуется поражением сосудов мозга, отчасти, и вещества головного мозга, с сосудисто-вегетативной симптоматикой. Рассматривая стадийность процесса развития цереброваскулярных патологий, надо отметить особую роль повышенного содержания оксида азота, так называемое оксидное воспаление, которое очень сильно бьет по микроциркуляции мозгового кровотока. Хроническая форма цереброваскулярных патологий является одной из основных причин сосудистой деменции и других психоневрологических расстройств. Согласно литературным данным [2], ишемические и гипоксические состояния характеризуются выраженным неврологическим дефицитом [3; 4]. Доказано, что важной составляющей цереброваскулярного патогенеза является сдвиг нервной регуляции, гипоксемия и гиперкапния и, как следствие, дисрегуляции. Декомпенсаторная гемоперфузия и неадекватная оксигенация способствуют структурно-функциональным нарушениям межнейрональных взаимоотношений, способствуют возрастанию образования свободных радикалов, окисляющих липиды, отсюда выраженный энергодефицит и глутаматная эйксайтотоксичность и как итог - апоптоз нейроцитов. В своем начале ишемия мозга является финальным моментом длительного процесса постепенных морфологических изменений церебральной гемодинамики. Решающее отрицательное воздействие на оксигенацию мозга и его активность остается за дистрессом. От уровня адаптационной возможности зависит резистентность клеток мозга в условиях ишемических состояний и последствия цереброваскулярной недостаточности.

Многочисленные экспериментальные, клинические и научно-исследовательские работы раскрывают потенциалы применения и воздействия растительных лекарственных средств превентивно с целью нейропротекции и направления в терапии цереброваскулярных патологий, позволяющие воздействовать на адаптационные резервы клеток мозга, что представляется перспективным. Особенно уделяется внимание возможности комбинирования лекарственных препаратов синтетического и природного происхождения. Это наиболее

оптимально с точки зрения дополнения эффектов и явления синергизма и синерго-антагонизма. Фитотерапия усиливает действие основных «базовых» препаратов, при этом нивелирует побочное действие их [5; 6].

Учитывая, что Россия обладает большим количеством лекарственных растительных ресурсов, многие растения успешно культивируются. Новые методы анализа позволяют даже у хорошо изученных растений открывать новые фармакологические эффекты. Фитотерапия успешно встраивается в любую схему лечения, легко корректируется и, несмотря на то что фитотерапия часто не обладает выраженной терапевтической широтой действия, адекватность подбора доз под определенные группы пациентов достаточно высока.

Объектом исследования явилась этилацетатная фракция из форзиции промежуточной (*Forsythia intermedia* Zabel.). Форзиция - растение, которое получило широкую известность благодаря выраженным фармакологическим эффектам: противовоспалительному, антибактериальному, антигипертензивному [7]. Ряд статей описывает влияние форзиции на мозговой кровоток, что и послужило отправной точкой данного исследования [8; 9]. Около 230 соединений было идентифицировано в процессе современного изучения данного растения [10].

Цель исследования: оценить токсичность изучаемого объекта, влияние на скорость кровотока мозга в период постишемии и на систематику артериального давления экстракта листьев форзиции, вид *Forsythia intermedia* Zabel., по отношению к контролю. В качестве препарата сравнения использовали экстракт гинкго билоба.

Материал и методы исследования. Изучение острой токсичности экстракта из листьев форзиции промежуточной (*Forsythia intermedia* Zabel.) проводили на 20 белых лабораторных мышах обоего пола, массой 20-21 г. Мышам внутрибрюшинно вводили 3500 мг/кг веса животного в 0,5 мл раствора экстракта. Показатели выживаемости экспериментальных животных явились критерием для оценивания острой токсичности. Сроки наблюдения составили 2 недели. Параллельно контрольным животным проводилось внутрибрюшинное введение физиологического раствора. Фиксировались: изменения активности движения и координации, отклонения в норме тонуса скелетной мускулатуры и дыхания, появление судорог, изменения потребления пищи и воды. Выраженных отклонений от нормы не было отмечено. Согласно параметрам классификации К.К. Сидорова исследуемый экстракт (этилацетатная фракция) из листьев форзиции промежуточной (*Forsythia intermedia*) относится к VI классу токсичности ($LD_{50}=3500$ мг/кг) («относительно безвредные» вещества) [4]. Изучение исследуемого экстракта на изменение мозгового кровотока и артериального давления выполнено на 56 лабораторных крысах мужского пола, трехмесячного возраста. Приготовленный экстракт получали из этилацетатной фракции

листьев форзиции (*Forsythia intermedia* Zabel.). Введение лабораторным крысам осуществляли внутрибрюшинно, учитывая более высокую биодоступность и развитие более высокого эффекта исследуемого экстракта. В каждой серии (7 серий) поставленных опытов использовали по 8 лабораторных животных (всего 56 крыс), согласно руководству по доклиническим фармакологическим испытаниям [11]. Регистрацию системного артериального давления производили прямым методом, с помощью катетера, введенного в правую сонную артерию. В качестве наркоза был использован хлоралгидрат, 300 мг/кг. На шею производили разрез продольно, в сонную артерию вводился катетер с содержанием раствора гепарина, 500 МЕ/мл. Далее катетер соединялся с ртутным манометром. Скорость объема кровотока мозга измеряли методом водородного клиренса, с помощью полярографа. Ингаляционно при этом животным подавался индифферентный газ (водород) через трахеотомическую трубку. Полученную кривую рассчитывали с учетом полувыведения водорода [12]. Скорость выведения газа с током крови животного регистрировалась на самописце по кривой изменения $T_{1/2}$. Данные рассчитывались с помощью специальной таблицы перерасчета кривой линии $T_{1/2}$ скорости кровотока мозга в мл/100г/мин. Статистика полученных результатов обсчитывалась при помощи компьютерной программы BioStat 4.03 по критерию Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение. Активность исследуемого экстракта (этилацетатного извлечения) из листьев форзиции промежуточной (*Forsythia intermedia* Zabel.) изучали после предварительного удаления экстрагента. Экстракт из листьев форзиции промежуточной вводили, предварительно растворенный в 1 мл дистиллированной воды, в дозах 10, 50 и 100 мг/кг. Выбор доз обусловлен согласно проведенным ранее исследованиям острой токсичности LD_{50} данного экстракта из листьев форзиции промежуточной и составил соответственно (1/35, 1/75, 1/350) от LD_{50} . Препаратом сравнения выступал экстракт гинкго билоба в дозе 50 мг/кг. Доза экстракта гинкго билоба 50 мг/кг была выбрана, исходя из средней, применяемой в терапевтических дозах в клинической практике при нарушениях мозгового кровообращения [13]. Полученные данные представлены на рисунках 1, 2. В контрольной серии эксперимента уровень артериального давления на исходном этапе составил $99,5 \pm 4,5$ мм рт. ст. К 60-й минуте эксперимента было отмечено падение уровня артериального давления в среднем на $15,2 \pm 1,8\%$. Данный факт характеризует тяжелое гипоксическое состояние и кислородное голодание ткани мозга. В контрольной серии опытов параметры объема скорости кровотока мозга при введении изотонического раствора были равны $110,6 \pm 3,5$ мл/100г/мин. В первые минуты после создания ишемического повреждения, на 5-15 минутах, наблюдали значительное увеличение объемной скорости мозгового кровотока – компенсаторную фазу гиперперфузии, в ответ на ишемию мозга. Увеличение

составило в среднем $28,8\% \pm 3,1$ и $3,3\% \pm 2,6$ соответственно на 5-15 минутах эксперимента. С 15-й минуты эксперимента вплоть до 60-й минуты наблюдали значимое падение скорости мозгового кровотока, что характерно для стадии гипоперфузии. Снижение объёмной скорости мозгового кровотока в контрольной группе животных составило в среднем $48,7\%$. При введении препарата сравнения – экстракта гинкго билоба в дозе 50 мг/кг наблюдали снижение фазы гиперперфузии (увеличение объёмной скорости мозгового кровотока составило на 5-й минуте $12,6\% \pm 5,2$). К 45-60-й минуте экспериментов под влиянием экстракта гинкго билоба наблюдали восстановление фазы гипоперфузии (падение объёмной скорости мозгового кровотока составило $25,4\% \pm 3,7$). Уровень системного артериального давления не отличался значимо от значений в контрольной серии экспериментов. В серии экспериментов с введением экстракта из листьев форзиции промежуточной в дозе 10 мг/кг наблюдали менее выраженное снижение скорости кровотока мозга в среднем на $15,9\%$. Артериальное давление в этот же период в контрольной группе снижалось на $10,5\%$. В следующей серии экспериментов, при введении экстракта из листьев форзиции промежуточной в дозе 50 мг/кг, регистрировали падение скорости кровотока мозга (в среднем на 43%). Параметры артериального давления практически не отличались от контрольных значений. В следующей серии экспериментов, при введении экстракта из листьев форзиции промежуточной в дозе 100 мг/кг, было отмечено следующее: объёмная скорость мозгового кровотока в первые 5-15 минут незначительно возросла (в среднем на 9%). К концу наблюдения, на 45-60-й минутах, объём скорости кровотока мозга в постишемическом периоде снизился лишь на 10% относительно фоновых значений и контрольной серии. Экстракт гинкго билоба в дозе 50 мг/кг при курсовом профилактическом введении животным в периоде постишемии показал достоверное снижение фазы гиперперфузии и достоверное поддержание уровня объёмной скорости мозгового кровотока в фазу гипоперфузии. Полученные данные свидетельствуют о защитном действии экстракта из листьев форзиции промежуточной в дозе 100 мг/кг при ишемии мозга у лабораторных животных. Наблюдали достоверное нивелирование фазы гиперперфузии и гипоперфузии под влиянием экстракта из листьев форзиции промежуточной в дозе 100 мг/кг. Полученные данные достоверны относительно исходных и контрольных значений. Данные о влиянии экстракта из листьев форзиции промежуточной в сравнении с экстрактом гинкго билоба и контрольной группой животных представлены на рисунках 1 и 2.

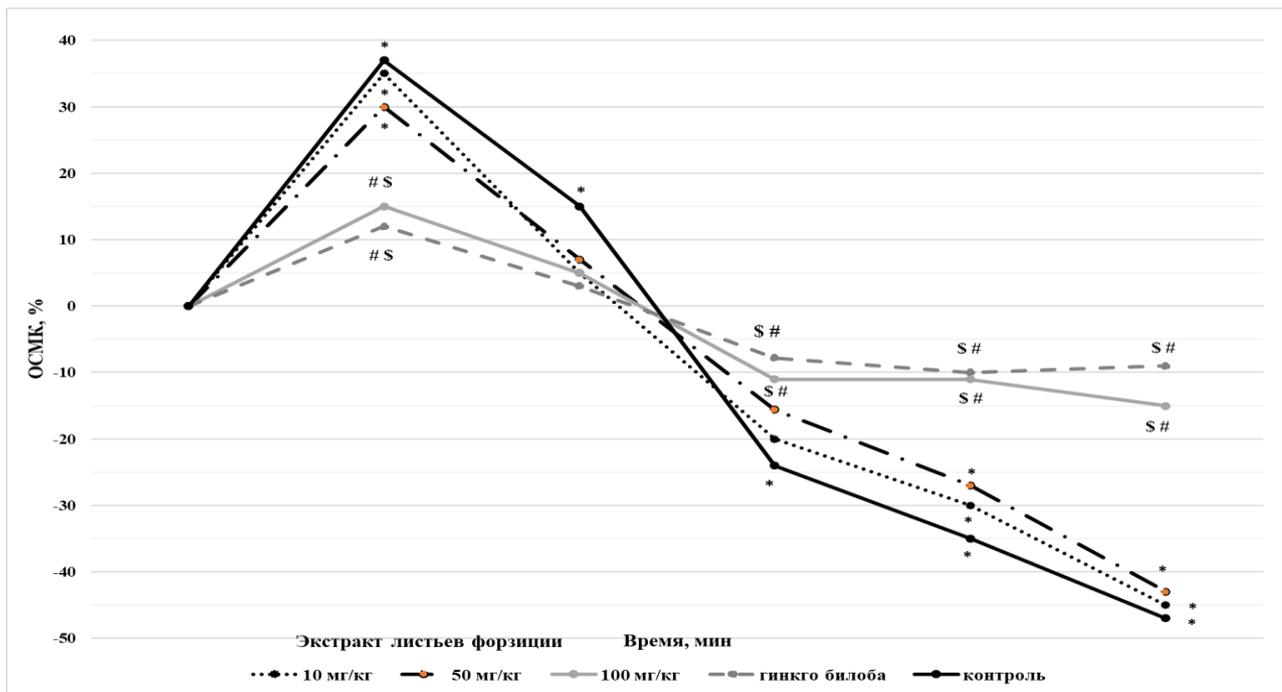


Рис. 1. Влияние экстракта из листьев форзиции промежуточной (10; 50 и 100 мг/кг, в/б) на изменение в динамике объема скорости кровотока мозга крыс в сравнении с контрольными данными и экстрактом гинкго билоба (50 мг/кг) в постишемическом периоде

* - достоверно по отношению к данным исхода,
 # - достоверно по отношению к группе контроля,
 \$ - достоверно по отношению к препарату сравнения.

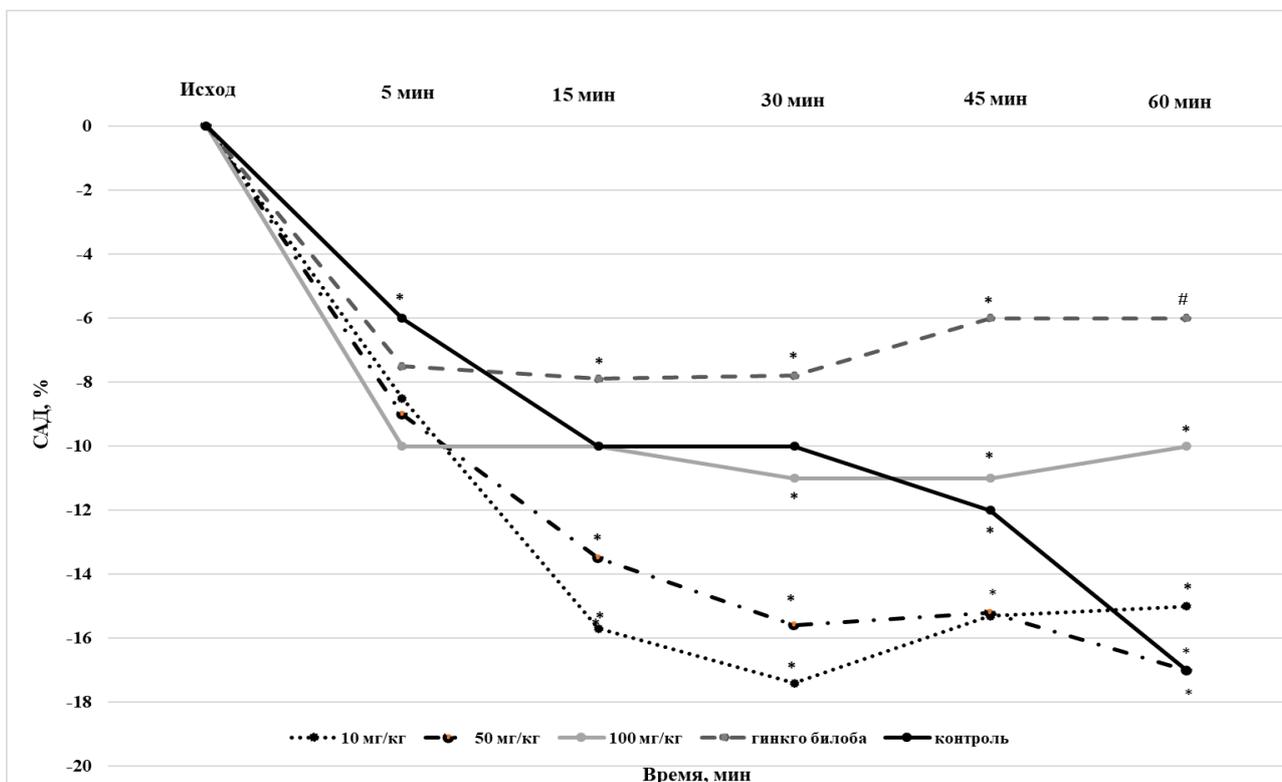


Рис. 2. Влияние экстракта из листьев форзиции промежуточной (10; 50 и 100 мг/кг, в/б) на изменение в динамике системного артериального давления наркотизированных крыс в сравнении с контрольными данными и экстрактом гинкго билоба (50 мг/кг) в постишемическом периоде

* - достоверно по отношению к данным исхода,
- достоверно по отношению к группе контроля.

Заключение. Патология хронического нарушения кровотока мозга имеет стадийность. Первая стадия включает неглобальные изменения, по типу расстройства астеноневротического характера. Вторая стадия - это тенденция в сторону ухудшения когнитивных свойств мозга. Третья стадия, когда ухудшения более заметны и имеют выраженный характер пароксизмальных патологий. Каждая стадия патологии подразумевает определенную схему лечения. Извлечения из форзиции промежуточной, в качестве фитотерапии, больше всего применимы в первую стадию развития патологии, так как именно на этой стадии удастся лучше корректировать процессы патологического окисления клетки, таким образом повышая выживаемость клетки благодаря резистентности к повреждающему агенту. И дополнительное использование извлечений из форзиции может усилить церебропротекторное действие назначаемых препаратов синтетического происхождения. Исходя из предположений научно-исследовательских работ по изучению фитокомплекса форзиции, одним из механизмов антигипоксического действия изучаемого объекта является торможение перекисного окисления липидов (ПОЛ) [8]. Результаты, полученные в ходе эксперимента, позволяют высказать предположение, что введение экстракта из листьев форзиции промежуточной с целью превентивной терапии можно рассматривать в дозе 100 мг/кг. В дозе 100 мг/кг экстракт из листьев форзиции промежуточной у экспериментальных животных оказывал защитное действие при ишемии мозга и характерно нивелировал фазу постишемической гиперперфузии, восстанавливал объемную скорость мозгового кровотока в фазу гипоперфузии на протяжении 60 минут эксперимента относительно контрольных значений. Под влиянием экстракта из листьев форзиции промежуточной артериальное давление в исследуемых дозах снижалось менее выражено в сравнении с контрольной серией, однако полученные данные не имели достоверных результатов относительно значений препарата сравнения. Снижение артериального давления имело достоверность только по отношению к исходным значениям.

Список литературы

1. Клочихина О.А., Стаховская Л.В., Полунина Е.А., Страхов О.А., Клочихина М.М.

Эпидемиология и прогноз уровня заболеваемости и смертности от инсульта в разных возрастных группах по данным территориально-популяционного регистра // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2019. № 8. С. 5-12.

2. Семенютин В.Б., Асатурян Г.А., Никифорова А.А., Панунцев Г.К., Алиев В.А., Ибляминов В.Б., Савелло А.В., Патцак А., Лаптев К.В., Дуданов И.П., Павлов О.А. Критические стенозы внутренних сонных артерий: церебральная ауторегуляция в ипсилатеральном бассейне // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017. № 8. С. 76-84.

3. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Методы оценки неврологических нарушений при экспериментальной церебральной ишемии // Биомедицина. 2019. № 2. С. 69-74.

4. Селезнёва А.И., Макаренко И.Е., Касторнова А.Е., Ходько С.В., Ковалёва М.А. Противоишемические свойства метаболитических средств в эксперименте // Биомедицина. 2014. № 1. С. 23-31.

5. Ивашев М.Н., Круглая А.А., Савенко И.А., Усманский Ю.В., Сергиенко А.В., Лысенко Т.А., Куянцева А.М., Арлыт А.В., Зацепина Е.Е., Саркисян К.Х., Ефремова М.П., Шемонаева М.В., Масликова Г.В., Сампиева К.Т., Струговщик Ю.С., Врубель М.Е., Алиева М.У. Биологическая активность соединений из растительных источников // Фундаментальные исследования. 2013. № 10. С. 1482-1484.

6. Арлыт А.В., Ивашев М.Н., Савенко И.А. Свертывание крови при ишемическом инсульте // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2013. № 7. С. 85-86.

7. Арлыт А.В., Ивашев М.Н., Савенко И.А. Совместное применение актовегина и кавинтона при инсульте // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2013. № 11. С. 999-1000.

8. Арлыт А.В., Ивашев М.Н., Савенко И.А. Активность фитокомплекса из форзиции промежуточной // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2013. № 8. С. 107-108.

9. Арлыт А.В., Ивашев М.Н., Савенко И.А. Сампиева К.Т. Влияние субстанции дигидрокверцетина на динамику мозгового кровотока и артериального давления у крыс // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 5. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=7153> (дата обращения: 28.06.2021)

10. Попова О.И., Леонова В.Н., Савенко И.А. Исследование фенольных соединений листьев форзиции промежуточной (*Forsythia intermedia* Zabel.) // Химия растительного сырья. 2012. № 2. С. 199-201.

11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств.

Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2013. 944 с.

12. Демченко И.Т. Измерение органного мозгового кровотока с помощью водородного клиренса // Физиолог. Журн. СССР. 1981. Т. 67. №1. С. 178-183.

13. Преферанская Н.Г. Недостаточность мозгового кровообращения сосудистого генеза // Московские Аптеки. Фармацевтическая газета. 15.05.2018.