

УДК 577.11; 615.36

А. А. Моисеева, М. Т. Генгин, Ж. В. Гришина

НЕЙРОСТИМУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА ПЕПТИДОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЛИЧИНОК ТРУТНЕВОГО РАСПЛОДА

Аннотация.

Актуальность и цели. В работе исследованы нейростимулирующие свойства водного экстракта пептидов из личинок трутневого расплода.

Материалы и методы. В нашей работе использовались физиолого-фармакологические тесты «Открытое поле» и «Выработка условного пищедобывательного рефлекса».

Результаты. При интраназальном введении биопрепарата на основе личинок трутневого расплода наблюдалось увеличение ноотропной, анксиолитической активности по сравнению с контрольными группами, которым вводился интраназально 0,9 % раствор NaCl.

Выводы. Препараты с трутневым расплодом можно рекомендовать принимать при повышенной утомляемости, для восстановления после депрессии, при стрессе, а также при различных неврозах.

Ключевые слова: личинка трутневого расплода, тест «Открытое поле», тест «Выработка условного пищедобывательного рефлекса», нейростимулятор, ноотроп, пептиды.

A. A. Moiseeva, M. T. Gengin, Zh. W. Grishina

NEUROSTIMULATING PROPERTIES OF A DRUG WITH PEPTIDES, EXTRACTED FROM DRONE BROOD LARVAE

Abstract.

Background. The authors researched neurostimulating properties of the extract of peptides of drone brood larvae.

Materials and methods. In the course of the experiment the researchers used such physiological-pharmacological tests as “Open field” and “Development of conditional food-procuring reflex”.

Results. After intranasal administration of the biological product the researchers evidenced an increase in nootropic, anxiolytic activity in comparison with control groups that underwent intranasal introduction of the 0,9 % solution of NaCl.

Conclusions. Preparations of drone brood may be recommended at high fatigue, for recovery after depressions, stress, as well as at various neuroses.

Key words: drone brood larva, “Open field” test, “Development of conditional food-procuring reflex” test, neurostimulator, nootropics, peptides.

Введение

Современные условия существования человека сопровождаются многочисленными стрессовыми ситуациями, в результате чего могут развиваться заболевания, связанные с нарушением функций центральной нервной системы (ЦНС). В мире более 40 % всех хронических заболеваний приходится на долю психоневрологических расстройств. Для лечения таких заболеваний в медицине используются преимущественно синтетические лекарственные средства, зачастую имеющие ряд побочных отрицательных эффектов. В связи с этим необходимым и важным является поиск препаратов природного (биологического) происхождения, характеризующихся быстротой действия, простотой и надежностью использования, а также дешевизной и доступностью.

Продукты пчеловодства сейчас занимают одно из ведущих мест среди натуральных средств лечения, они могут стать безопасной и доступной альтернативой лекарственным химическим средствам [1]. В природе не существует других столь биологически активных продуктов, содержащих белки, липиды, углеводы, витамины, минеральные вещества, гормоны, способных влиять на множество функций организма [2].

Объектом нашего исследования была выбрана личинка трутневого расплода, которая как биообъект характеризуется чрезвычайно высокой скоростью роста и обменных процессов: за очень короткий период онтогенеза (5–7 дней развития) масса личинки увеличивается более чем в 1,5 тысячи раз [3, 4]. В основе этого процесса лежат уникальные механизмы регуляции генетического аппарата, контролирующего скорость синтеза белка в клетке, в том числе ферментов, что и обеспечивает высокий уровень сбалансированного содержания питательных веществ. При этом каждая пчелиная семья старается вырастить как можно больше трутней, и для этого они не жалеют кормов: для того чтобы вырастить одну личинку трутня, затрачивается столько перги, сколько необходимо для шести рабочих пчел [5, 6].

В медицинской практике известно использование трутневого расплода в качестве стимулятора для развития организма [7] и деятельности нервной системы: регулирует сон, повышает аппетит и оказывает успокаивающее действие [8].

Главной задачей нашего исследования было изучение нейростимулирующих свойств биопрепарата, разработанного на основе водного экстракта пептидов личинок трутневого расплода.

Материалы и методы

Материалом исследований являлись пептиды, выделенные из 6–8-дневных личинок трутневого расплода, так как именно в этот период в трутневом расплоде присутствует максимальное количество биологически активных веществ, а ткани легко поддаются переработке [3].

Сведений по физиолого-фармакологическим свойствам пептидов трутневого расплода в публикациях нет. Для доказательства ноотропного эффекта пептидов были выбраны физиолого-фармакологические тесты, используемые для оценки действия нейростимулирующих лекарственных средств, – «Открытое поле» и «Выработка условного пищедобывательного рефлекса».

Тест «Открытое поле» позволяет изучить поведение животных в новых условиях окружающей среды. Помещение животного в камеру запускает

акты исследовательского поведения, реализации которых препятствуют условия, вызывающие страх. Тест «Открытое поле» служит экспериментальной моделью тревоги [9] и широко используется для оценки действия нейропсихотропных лекарственных средств. Установка «Открытое поле» представляет собой круглую площадку (диаметр (d) площадки для крыс – 97 см), ограниченную бортами высотой 40–60 см. Площадка с выделением центральной части разделена на 18 секторов, на пересечении которых имеется 16 отверстий $d = 2\text{--}3$ см [10].

Животных помещали в центральную часть установки и в течение 5 минут регистрировали с помощью видеоборудования следующие параметры: горизонтальная и вертикальная двигательная активность (ГДА и ВДА), количество заходов в центральную зону, обнюхивание отверстий, наличие реакций замирания (отчаяния или «freezing»), дефекацию и груминг.

Тест «Выработка условного пищедобывательного рефлекса» входит в базовые тесты по изучению ноотропной активности физиологических веществ. Лабораторных животных с пищевой депривацией помещали в стартовый отсек Т-образного лабиринта, в одном из рукавов которого находилась кормушка с пищей (в качестве подкрепления применяли кусочки хлеба массой 0,2 грамма). Через 30–60 секунд после посадки животного в стартовый отсек открывали дверцу. Звук открывания дверки служил условным раздражителем. В качестве критериев выработки рефлекса выбирали восемь правильных пробежек из десяти предъявляемых.

В данном тесте регистрировали время пробежки животного от стартового отсека до кормушки, число правильных и неправильных ответов (заходы в пустой рукав) [10–12]. В течение пяти дней вырабатывали пищевой условный рефлекс на звуковой раздражитель. Прежде чем приступить к выработке рефлексов, животных адаптировали: за день до эксперимента лабораторных крыс помещали в условия установки Т-лабиринта.

Все эксперименты были выполнены на белых беспородных лабораторных крысах-самцах возрастом 3 месяца и массой 190–220 грамм. Животных содержали в условиях вивариума при искусственном освещении СТ 12:12 со свободным доступом к воде и пище. Животные были разбиты на две группы: группа I (опытная) – животным интраназально вводили пептиды трутневого расплода в объеме 20 мкл; группа II (контрольная) – 0,9 % NaCl в объеме 20 мкл. Введение пептидов трутневого расплода осуществляли за 15 минут до начала эксперимента.

Результаты подвергали статистической обработке с использованием *t*-критерия Стьюдента и непараметрических методов. Для оценки достоверности двух выборок использовали *U*-критерий Уилкинсона (непараметрический критерий Манна – Уитни) [13].

Результаты исследований

В результате исследования биологических свойств препарата в тесте «Открытое поле» было обнаружено, что введение пептидов вызывает достоверное увеличение двигательной (число вертикальных стоек) и ориентировочно-исследовательской активности (число заходов в центр, обнюхиваний и реакций груминга) (табл. 1). Кроме этого, у опытных крыс снижается уровень дефекации, что говорит о снижении эмоциональной тревожности животных.

Влияние биопрепарата на основе пептидов личинок трутневого расплода на регистрируемые параметры в тесте «Открытое поле»

Регистрируемый параметр	Опыт (биопрепарат)	Контроль (0,9 % p-p NaCl)
ВДА	11,86 ± 2,6*	4,66 ± 0,43
ГДА	37,57 ± 3,83	37 ± 3,2
Freezing, %	28,57 ± 1,74**	83,3 ± 1,57
Заход в центр ОП, %	57,14 ± 1,92**	16,67 ± 2,01
Обнюхивание	2,57 ± 0,57**	1,66 ± 0,32
Груминг	5 ± 0,11**	2,16 ± 0,05
Дефекация	0,43 ± 0,7*	1,5 ± 0,38

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

Введение пептидов трутневого расплода в условиях такого стресса вызывает снижение эмоциональной тревожности и увеличение поисковой и двигательной активности. Изменение этих показателей позволяет предположить, что пептиды трутневого расплода снижают уровень страха, т.е. обладают анксиолитическим действием, а также улучшают процессы памяти и умственной деятельности – ноотропный эффект пептидов.

В результате исследования поведения лабораторных крыс в тесте «Выработка условного пищедобывательного рефлекса» было обнаружено, что процесс обучения в группе животных, получавших пептиды, происходил значительно быстрее: количество правильно выполненных реакций в этой группе достоверно выше, чем в контрольной (рис. 1). Особенно эффект обучения был выражен на второй и четвертый день. Таким образом, введение пептидов трутневого расплода в период обучения способствует ускорению формирования условных правильных реакций (УПР) у крыс.

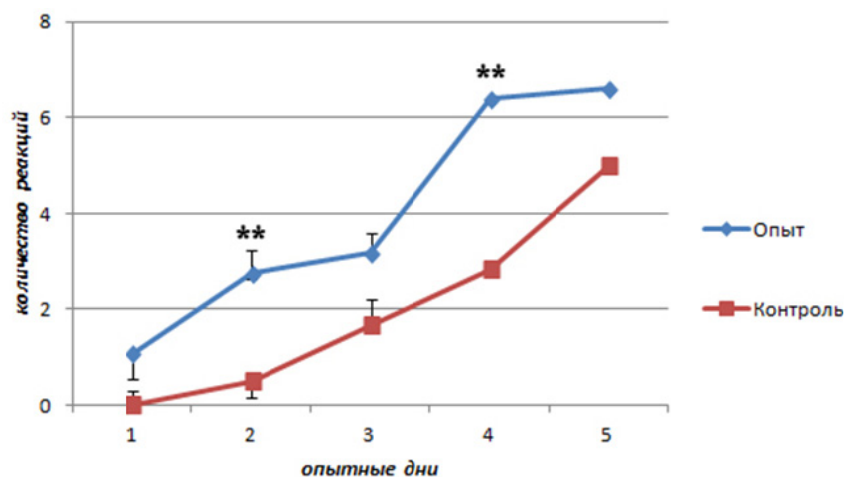


Рис. 1. Динамика формирования УПР у крыс на фоне интраназально введенных пептидов трутневого расплода:
** – $p < 0,01$ относительно контрольной группы

Введение пептидов кроме увеличения числа правильных условных реакций вызывало достоверное снижение латентных периодов, к тому же во все эти дни опытным животным требовалась меньшая продолжительность звукового раздражителя по сравнению с контрольными животными (рис. 2).

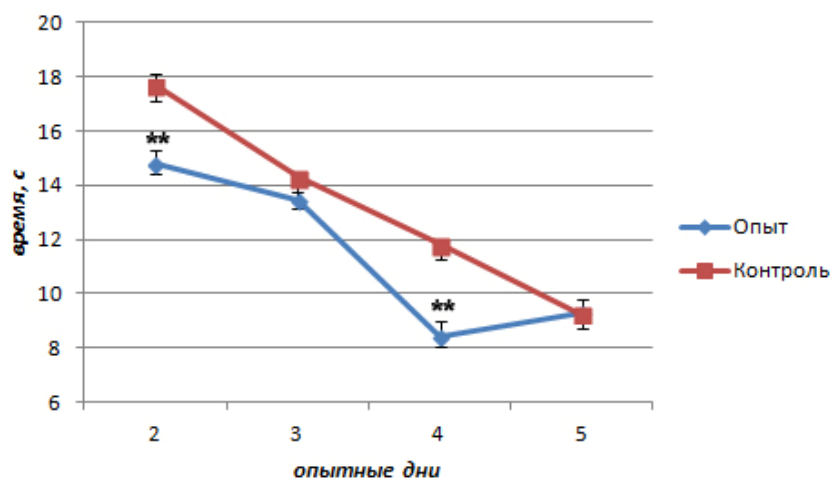


Рис. 2. Латентные периоды УПР на фоне интраназально введенных пептидов трутневого расплода:
** – $p < 0,01$ относительно контрольной группы

Выводы

В ходе исследований в экспериментах на животных было выявлено, что пептидный биопрепарат, полученный из 6–8-дневных личинок трутневого расплода, обладает нейростимулирующим действием, а именно ноотропным эффектом.

Пептиды трутневого расплода, вводимые интраназальным способом, в условиях стресса вызывают достоверное снижение эмоциональной тревожности и увеличение поисковой и двигательной активности. В ходе экспериментальных исследований также было выявлено ноотропное действие препарата, на фоне его введения в период обучения наблюдается значительное ускорение формирования условных правильных реакции.

Следовательно, препараты с трутневым расплодом можно рекомендовать принимать при повышенной утомляемости, для восстановления после депрессии, стрессе, а также при различных неврозах.

Список литературы

1. Дубцова, Е. А. Состав, биологические свойства меда и его лечебное применение / Е. А. Дубцова, Л. Б. Лазебник // Клиническая геронтология. – М. : Ньюдиамед, 2009. – Т. 15, № 1.
2. Беляев, А. В. Адаптогенные свойства препарата на основе трутневого расплода / А. В. Беляев, Е. В. Сафоноская // Пчеловодство. – 2009. – № 6. – С. 52–53.
3. Будникова, Н. В. Биологически активные соединения в трутневом расплоде / Н. В. Будникова // Пчеловодство. – 2009. – № 6. – С. 52.
4. Лебедев, В. И. Заготовка личинок трутней – это здорово / В. И. Лебедев, М. А. Легович // Пчеловодство. – 2009. – № 8. – С. 48–49.

5. **Кривцов, Н. И.** Продукты пчеловодства и их композиции в апитерапии / Н. И. Кривцов // Апитерапия сегодня : материалы Всесоюз. науч.-практ. конф. «Апитерапия-21 век». – Рыбное : НИИП, 2004. – С. 3–8.
6. **Прохода, И. А.** Получение апидобавок из личинок пчел / И. А. Прохода // Пчеловодство. – 2009. – № 8. – С. 48–49.
7. **Krell, R.** Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome / R. Krell // *Faoagricultural services bulletin*. – 1996. – № 124. – P. 409.
8. **Мбауа, J. S. K.** Usages of bee products in folk medicine in Kenya / J. S. K. Mbaya // *Bee products: Properties, applications and apitherapy : program 7 Abstracts International Conference*. – Israel, 1996. – P. 98.
9. **Буреш, Я.** Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – 399 с.
10. **Самотруева, М. А.** Экспериментальные модели поведения / М. А. Самотруева, Д. Л. Теплый, И. Н. Тюренков // *Журнал функциональных и прикладных исследований*. – 2009. – № 2 (27).
11. **Deacon, R. M. J.** Appetitive position discrimination in the T-maze / R. M. J. Deacon // *Nature Protocols*. – 2006. – Vol. 1, № 1. – P. 13–15.
12. **Deacon, R. M. J.** T-maze alternation in the rodent / R. M. J. Deacon, J. N. P. Rawlins // *Nature Protocols*. – 2006. – Vol. 1, № 1. – P. 7–12.
13. **Лакин, Г. Ф.** Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. вузов / Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

References

1. Dubtsova E. A., Lazebnik L. B. *Klinicheskaya gerontologiya* [Clinical gerontology]. Moscow: N'yudiamed, 2009, vol. 15, no. 1.
2. Belyaev A. V., Safonoskaya E. V. *Pchelovodstvo* [Apiculture]. 2009, no. 6, pp. 52–53.
3. Budnikova N. V. *Pchelovodstvo* [Apiculture]. 2009, no. 6, p. 52.
4. Lebedev V. I., Legovich M. A. *Pchelovodstvo* [Apiculture]. 2009, no. 8, pp. 48–49.
5. Krivtsov N. I. *Apiterapiya segodnya: materialy Vsesoyuz. nauch.-prakt. konf. «Apiterapiya-21 vek»* [Apitherapy nowadays: proceedings of the All-Union scientific and practical conference “Apitherapy – the 21st century”]. Rybnoe: NIIP, 2004, pp. 3–8.
6. Prokhoda I. A. *Pchelovodstvo* [Apiculture]. 2009, no. 8, pp. 48–49.
7. Krell R. *Faoagricultural services bulletin*. 1996, no. 124, p. 409.
8. Mbaya J. S. K. *Bee products: Properties, applications and apitherapy: program 7 Abstracts International Conference*. Israel, 1996, p. 98.
9. Buresh Ya., Bureshova O., Kh'yuston D. *Metodiki i osnovnye eksperimenty po izucheniyyu mozga i povedeniya* [Techniques and fundamental experiments on studying the brain and its behavior]. Moscow: Vysshaya shkola, 1991, 399 p.
10. Samotrueva M. A., Teplyy D. L., Tyurenkov I. N. *Zhurnal funktsional'nykh i prikladnykh issledovaniy* [Journal of functional and applied research]. 2009, no. 2 (27).
11. Deacon R. M. J. *Nature Protocols*. 2006, vol. 1, no. 1, pp. 13–15.
12. Deacon R. M. J., Rawlins J. N. P. *Nature Protocols*. 2006, vol. 1, no. 1, pp. 7–12.
13. Lakin G. F. *Biometriya: ucheb. posobie dlya biol. spets. vuzov* [Biometrics: tutorial for biological universities]. Moscow: Vysshaya shkola, 1990, 352 p.

Моисеева Анна Алексеевна
научный сотрудник, Пензенский
государственный университет
(Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: nyusha.moiseeva@yandex.ru

Moiseeva Anna Alekseevna
Researcher, Penza State University
(40 Krasnaya street, Penza, Russia)

Генгин Михаил Трофимович

доктор биологических наук, профессор,
кафедра общей биологии и биохимии,
Пензенский государственный
университет
(Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: gengin07@yandex.ru

Gengin Mikhail Trofimovich

Doctor of biological sciences, professor,
sub-department of biology and
biochemistry, Penza State University
(40 Krasnaya street, Penza, Russia)

Гришина Жанна Валерьевна

аспирант, Пензенский
государственный университет
(Россия, г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: grinzanetk@gmail.com

Grishina Zhanna Waler'evna

Postgraduate student, Penza
State University
(40 Krasnaya street, Penza, Russia)

УДК 577.11; 615.36

Моисеева, А. А.

Нейростимулирующие свойства препарата пептидов, выделенных из личинок трутневого расплода / А. А. Моисеева, М. Т. Генгин, Ж. В. Гришина // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2015. – № 4 (12). – С. 3–9.