

Наши исследования показали, что у больных БА средней тяжести  $ID$  на 100 эритроцитов периферической крови составляет только  $0,03 \pm 0,0008$  усл. ед. (в контроле –  $0,18 \pm 0,003$  усл. ед.).

Таким образом, у больных БА средней тяжести в результате воздействия на мембрану эритроцитов био-генноактивных веществ, под влиянием которых повышается содержание продуктов ПОЛ, резко нарастает ее ригидность, вследствие чего увеличивается процентное содержание клеток со сниженной деформабельностью. Это становится одной из ведущих причин снижения доставки кислорода в мелкие капилляры органов, что и формирует тканевую гипоксию при БА.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев Н.А. Гематология детского возраста. СПб.: Гиппократ, 1998. 554 с.
2. Бертельсон Л.Д. Биологические мембраны. М.: Наука, 1975. 63 с.
3. Болдырев А.А. Введение в биохимию мембран. М.: Высшая школа, 1986. 111 с.
4. Болдырев А.А. Введение в мембранологию. М.: МГУ, 1990. 219 с.
5. Величковский Б.Т. Молекулярные механизмы нарушения газообменной функции легких на Крайнем Севере // Пульмонология. 2005. №4. С.61–64.
6. Вострикова Е.А. Изменения перекисного окисления липидов при бронхиальной обструкции // Пульмонология. 2006. №1. С.64–67.
7. Кириллов М.М. Влияние медикаментозной терапии бронхиальной астмы на систему микроциркуляции и гемостаз // Пульмонология. 2002. №2. С.17–21.
8. Козинец Г.И. Поверхностная архитектура периферической крови в норме и при заболеваниях системы крови. Таллин: Валтус, 1984. 116 с.
9. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы гипоксии // Вестник РАМН. 2000. №9. С.3–11.
10. Рябов Г.А. Гипоксия критических состояний. М.: Медицина, 1988. 288 с.
11. Чижевский А.Л. Структурный анализ движущейся крови. М.: АН СССР, 1959. 471 с.
12. Юрлов В.М. Роль эритроцитов в патогенезе нарушений гемостаза у больных бронхиальной астмой // Клиническая медицина. 1986. №9. С.74–77.
13. Famodu A.A., Oviawe O., Falodun O. Haemorrhological changes in asthmatic Nigerian children // Haematologia. 1994. Vol.26, №2. P.117–119.
14. Tissue factor and pathway inhibitor during specific bronchial challenge in allergic asthma patients / Kemonachetnic I. [et al.] // Przegl. Lek. 2005. Vol.62, №2. P.98–101.

Поступила 28.02.2011

Михаил Тимофеевич Луценко, руководитель лаборатории,  
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22;  
Mikhail T. Lutsenko,  
22 Kalinina Str., Blagoveschensk, 675000;  
E-mail: Lucenkomt@mail.ru



УДК 612.216.2(616.153.455-008.61)-092.4:615.322

С.С.Целуйко, Н.П.Красавина, Л.С.Корнеева, В.А.Доровских

### ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ ЛЕГКОГО ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА

ГОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздрава России, Благовещенск

#### РЕЗЮМЕ

Применение дигидрохверцетина на фоне экспериментальной гипергликемии снижает уровень реакции перекисного окисления липидов, повышает антиоксидантную защиту, предотвращает развитие структурных изменений в стенке крове-

носных сосудов, в перибронхиальной соединительной ткани и в респираторном отделе легких лабораторных животных.

Ключевые слова: экспериментальная гипергликемия, дигидрохверцетин, перекисное окисление липидов, респираторный отдел легкого, ангиопатия.

## SUMMARY

S.S.Tseluyko, N.P.Krasavina, L.S.Korneyeva,  
V.A.Dorovskikh

**HISTOPHYSIOLOGY OF THE LUNG  
IN EXPERIMENTAL HYPERGLYCEMIA  
AGAINST THE INTRODUCTION  
OF DIHYDROQUERCETIN**

**The introduction of dihydroquercetin against experimental hyperglycemia reduces the reaction of lipid peroxidation, increases antioxidant protection, prevents the development of structural changes in the wall of blood vessels in peribronchial connective tissue and in the respiratory part of the lungs of laboratory animals.**

*Key words: experimental hyperglycemia, dihydroquercetin, lipid peroxidation, respiratory part of the lung, angiopathy.*

Широкое распространение и высокие темпы роста сахарного диабета (СД), сопровождающегося развитием многочисленных осложнений, которые, в конечном счете, приводят к снижению продолжительности и качества жизни больных, определяют актуальность данной проблемы [1, 8]. Основная роль в развитии осложнений СД, в частности ангиопатий, принадлежит гипергликемии на фоне, которой активизируются реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ), их продукты являются ведущими в развитии патологии различных органов, в том числе и легких. Постоянный контакт легкого с большим количеством кислорода, особенно на фоне гипергликемии, приводит к значительной активации реакции ПОЛ, что является одной из причин повреждения и гибели клеток [2, 3, 13]. Это ведет к развитию патологических изменений во всех структурах органов дыхания и, особенно, в кровеносных сосудах. Высокая активность реакции ПОЛ при СД напрямую коррелирует с выраженностью сосудистых осложнений. Известно, что смертность больных СД от неспецифических заболеваний легких составляет около 6% [8, 10]. Поэтому поиск лекарственных препаратов, способных предупредить или, в крайнем случае, ослабить неблагоприятные последствия гипергликемии и осложнений, развивающихся на ее фоне, весьма перспективен. Определенный интерес представляют препараты, обладающие антиоксидантным действием – биофлавоноиды, которые обеспечивают защиту организма от «оксидативного стресса» [4, 15]. Дигидрокверцетин – наиболее активный антиоксидант, связывающий свободные радикалы и лишаящий их вредоносной активности [4, 5, 11].

Целью работы было изучение влияния дигидрокверцетина на морфофункциональное состояние лёгкого и свободно-радикального окисления липидов при экспериментальной гипергликемии.

#### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 100 белых крысах-самцах в возрасте 6-7 месяцев, весом 220-280 г. Интактные животные составили 1 группу. Во 2 и 3 группах (в течение

8 недель), в 4 и 5 группах (в течение 16 недель) вызывали экспериментальную гипергликемию путем ежедневного приёма глюкозы, которую животные получали утром перорально в дозе 1,2 г и вечером парентерально (внутрибрюшинно) введением в виде раствора в дозе 600 мг/100 г веса. Животным в 3 и 5 группах на фоне гипергликемии дополнительно ежедневно давали дигидрокверцетин в дозе 2,5 мг/100 г веса. Лёгкое фиксировали в 10% нейтральном формалине, изготавливали парафиновые срезы с последующей окраской: гематоксилином и эозином для обзорного изучения; гликозаминогликаны выявляли альциановым синим 8 GX по Стилдену (1950); нейтральные полисахариды ШИК-реакцией по Мак-Манусу (1954). Ткань лёгкого изучали на полутонких и ультратонких срезах. Обработка материала для трансмиссионной микроскопии осуществлялась по методике J.J.Coalson, V.T.Winteret et al. (1986). Уровень глюкозы в периферической крови определяли натошак глюкозооксидазным методом на приборе One Touch Basic TM Plus (Джонсон и Джонсон, США). Интенсивность реакции ПОЛ и уровень антиоксидантной защиты оценивали в крови и ткани легкого по следующим показателям: концентрацию гидроперекисей липидов (ГП) определяли методом Л.А.Романовой, И.Д.Стальной (1977) в модификации Е.А.Бородина и соавт. (1992), содержание витамина Е выявляли по методу Р.Ж.Киселевич, С.И.Скварко (1972), уровень диеновых конъюгатов (ДК) определяли методом И.Д.Стальной (1972).

Протокол экспериментальной части исследования на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), Приказе МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», Приказе МЗ РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики». При завершении научных исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации с соблюдением требований гуманности согласно приложению № 4 к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления животного)». Проведенное исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике АГМА (протокол № 9 от 26 ноября 2007 г.).

#### Результаты исследования и их обсуждение

В ходе эксперимента было выявлено достоверное увеличение средних значений содержания глюкозы в крови крыс через 8 недель наблюдения до  $6,4 \pm 0,53$  ммоль/л, через 16 недель этот показатель составлял

7,1±0,63 ммоль/л. Применение дигидрокверцетина позволило снизить уровень глюкозы крови через 8 недель до 5,2±0,14 ммоль/л, а после 16 недель наблюдения данный показатель находился в пределах 5,8±0,32 ммоль/л.

При экспериментальной гипергликемии в периферической крови крыс отмечено значительное и достоверное повышение в сравнении с контролем содержания большинства продуктов ПОЛ, особенно ДК до 81,6±4,04 нмоль/мл (через 8 недель поддержания гипергликемии,  $p < 0,001$ ) и 52,8±3,09 нмоль/мл (после 16 недель,  $p < 0,001$ ). У интактных животных этот показатель был гораздо ниже – 18,6±0,38 нмоль/мл. Содержание витамина Е достоверно снижалось до 27,8±0,62 мкг/мл (через 8 недель гипергликемии,  $p < 0,001$ ) и до 24,6±0,97 мкг/мл (после 16 недель,  $p < 0,001$ ). У интактных крыс уровень витамина Е составлял 32,5±0,57 мкг/мл. В условиях гипергликемии наблюдается статистически достоверная активация процессов ПОЛ в ткани легкого, где во все сроки эксперимента отмечается аналогичная тенденция – снижение концентрации витамина Е и рост содержания ДК и особенно ГП.

Применение в ходе эксперимента дигидрокверцетина приводит к достоверному и значительному снижению в периферической крови показателей ДК до 68,8±2,03 нмоль/мл (через 8 недель,  $p < 0,01$ ) и до 42,7±2,68 нмоль/мл (после 16 недель,  $p < 0,05$ ). В ткани легкого на фоне применения дигидрокверцетина отмечено снижение первичных продуктов ПОЛ, а именно ДК до 59,8±1,19 нмоль/г через 8 недель поддержания гипергликемии, а затем к 16 неделе эксперимента и вторичных продуктов ПОЛ (ГП) до уровня параметров, характерных для интактных животных. Уровень антиоксидантной защиты возрос, о чем свидетельствует повышение концентрации витамина Е в периферической крови и особенно в ткани легкого.

Таким образом, в условиях патологии углеводного обмена высокие значения гликемии провоцируют избыточное образование свободных радикалов и оказывают цитотоксическое действие на ткани легкого. Если при создании гипергликемии мы отметили увеличение в периферической крови и ткани легкого концентрации ДК и ГП на фоне снижения уровня витамина Е, то при применении дигидрокверцетина выявляли тенденцию, свидетельствующую о положительной динамике этих показателей. Вместе с тем следует отметить, что в тканях легкого продолжала сохраняться повышенная активность окислительных процессов. Вполне вероятно, что из лёгкого происходит выход продуктов ПОЛ в общий кровоток. Важная роль в ограничении интенсивности процессов окисления в данном случае, несомненно, принадлежит активации системы антиоксидантной защиты.

При морфологическом изучении препаратов нами установлено, что общий план строения стенки бронхов на фоне гипергликемии сохранён, но достаточно часто выявляется различной степени выраженности периваскулярный отёк, особенно вокруг венозных сосудов, в которых отмечается застой форменных элементов

крови, возникает гипертрофия гладкомышечных клеток. Перибронхиальная соединительная ткань инфильтрирована многочисленными лимфоцитами и макрофагами, также содержит крупные липидные капли, как при гипергликемии в течение 8 недель, так и особенно при поддержании высокого уровня глюкозы в течение 16 недель эксперимента. Изменение в респираторном отделе характеризуются появлением зон ателектаза и участков эмфиземы, обширной инфильтрации и кровенаполнением капилляров. Увеличение толщины стенки альвеол особенно наглядно видно на электроннограммах (рис. 1). В септальных перегородках (рис. 2) появляются многочисленные скопления волокон (коллагеновых и эластических), зоны мукоидного набухания. Известно, что количество макрофагов в просвете альвеол зависит от уровня глюкозы крови и выраженности плазморрагии [6, 12].

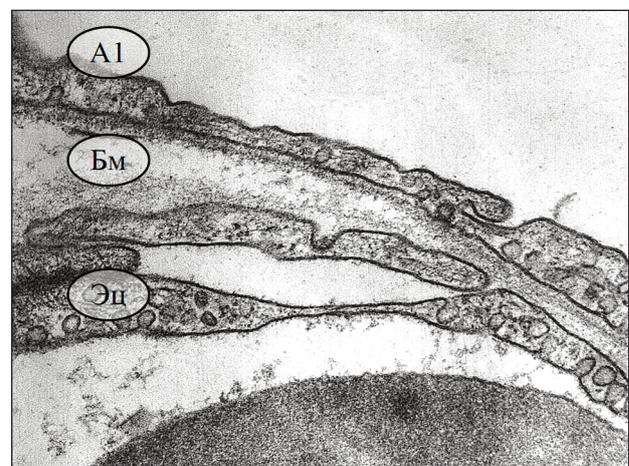


Рис. 1. Стенка альвеолы крысы при гипергликемии в течение 8 недель. Очаговое увеличение толщины базальной мембраны (Бм), появление мелких вакуолей в цитоплазме эндотелиоцита (Эц) и в альвеолоците 1 типа (А1). Заливка: аралдит-эпон. Окраска: уранилацетат, цитрат свинца. Увеличение: 25000.

Вероятно, в таких условиях при высоком содержании глюкозы крови макрофаги играют активную роль в резорбции и удалении продуктов обмена, поступающих из сосудистого русла в стенку и просвет альвеол [14]. В просвете альвеол присутствуют крупные макрофаги с большим числом вакуолей. В структуре альвеолы толщина базальной мембраны в некоторых участках увеличивается, наблюдается её разрыхление, в альвеолоцитах 1 типа и эндотелиальных клетках появляются многочисленные вакуоли. Наблюдается очаговое усиление реакции на гликозаминогликаны в перибронхиальной соединительной ткани, увеличивается количество ШИК-позитивных гранул, которые имеют диффузную, либо очаговую локализацию. В кровеносных сосудах альвеол, во внутренней и средней оболочках бронхиальных сосудов, особенно во круг последних, выявляется периваскулярный отёк. Выраженная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами по типу гранулематозных образований (рис. 3) свидетельствует о ведущей роли метаболических нарушений углеводного обмена и плазморрагических

процессов в развитии диабетических ангиопатий. По мнению ряда авторов, при гипергликемии не последнюю роль в прогрессировании структурно функциональных нарушений в легких играет избыточное образование перекисей липидов [2, 7, 9].

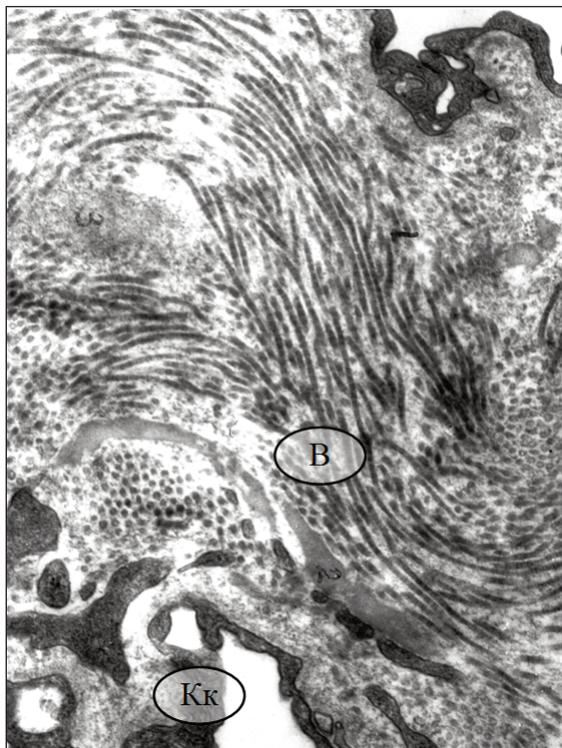


Рис. 2. Стенка альвеолы легкого крысы при гипергликемии в течение 16 недель. Просвет кровеносного капилляра (Кк) окружен пучками многочисленных коллагеновых волокон (В), имеющих различные направления. Заливка: аралдит-эпон. Окраска: уранилацетат, цитрат свинца. Увеличение: 10000.

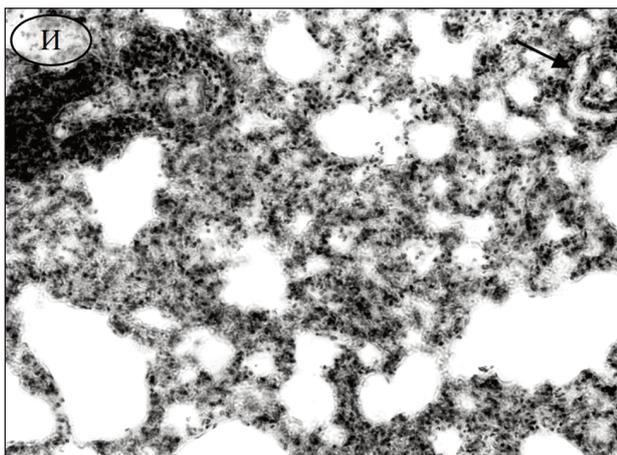


Рис. 3. Респираторный отдел лёгкого крысы при гипергликемии в течение 16 недель. Большинство альвеол находится в спавшемся состоянии, в просвете многочисленные клетки. Периваскулярный отёк (↑) и в этих участках выявляется диффузная либо очаговая инфильтрация (И) лейкоцитами (гранулематозные образования). Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение: 280.

У животных, которым на фоне гипергликемии да-

вали дигидрохверцетин, изменения в слизистой оболочке субсегментарных и внутривидольковых бронхов носят очаговый характер. Наблюдается миграция через эпителий многочисленных тучных клеток. В респираторном отделе большинство альвеол сохраняет план строения, типичный для интактных животных, но часть альвеол эмфизематозно расширены, их стенки истончены (рис. 4). Реакция на ШИК-позитивные вещества остается достаточно высокой. В стенке альвеол она имеет мозаичный характер, небольшое число гранул выявляется в базальных мембранах капилляров. Повышенная реакция на нейтральные полисахариды сохраняется в перибронхиальной соединительной ткани и в стенках кровеносных сосудов. В периферической зоне лимфоэпителиального образования бронхов клеточные элементы располагаются диффузно, иногда захватывают прилегающие участки паренхимы легкого. В их составе достоверно увеличивается число лимфобластов и средних лимфоцитов на фоне снижения малых лимфоцитов и плазмочитов.

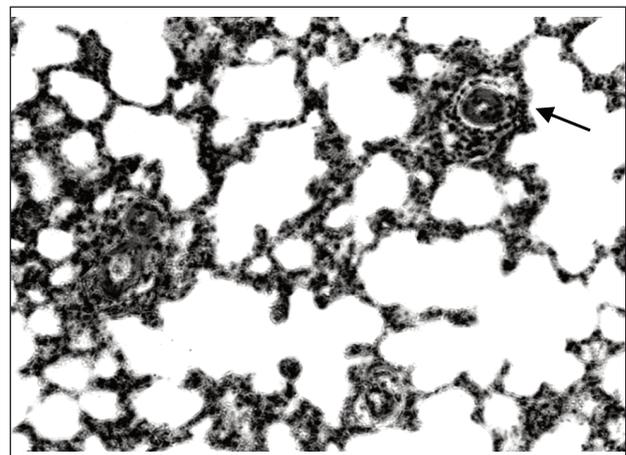


Рис. 4. Респираторный отдел лёгкого при 16 неделях гипергликемии на фоне введения дигидрохверцетина. Большая часть альвеол сохраняет обычный план, имеются признаки периваскулярного отека и небольшая лейкоцитарная инфильтрация этой зоны (↑). Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение: 280.

Таким образом, дигидрохверцетин в условиях гипергликемии и развившегося окислительного стресса оказывает защитное действие, предупреждая развитие структурных изменений в легком и связанных с ними последствий, и, в то же время, вероятно, снижает чрезмерное напряжение систем, обеспечивающих компенсаторно-приспособительные реакции организма.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Аметов А.С. Перспективы развития диабетологии // Тер. архив. 2005. № 10. С.59.
2. Балаболкин М.И., Клебанова Е. М. Роль инсулинорезистентности в патогенезе сахарного диабета 2 типа // Тер. архив. 2003. № 1. С.72–77.
3. Эндотелиальная дисфункция и микроциркуляторные нарушения у больных сахарным диабетом 2 типа / Башкирова Ю. В. [и др.] // Бюл. СО РАМН. 2008. №6. С.182–186.

4. Волчегорский И.А., Рассохина Л.М., Мирошниченко И.Ю. Антиоксиданты при экспериментальном сахарном диабете // Пробл. эндокринологии. 2008. №5. С.43–49.

5. Изучение генотоксичности дигидрохверцетина *in vivo* / Жанатаев А.К. [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2008. №3. С.309–312.

6. Компьютерная томография и гистологические изменения в легких при сахарном диабете / Шойхет Я.Н. [и др.] // Бюл. СО РАМН. 2008. №2. С.63–67.

7. Подгребельный А.Н., Смирнов О.М., Дедов И.И. Роль фибробластов в развитии сахарного диабета и его осложнений // Пробл. эндокринологии. 2005. Т.51, №2. С.14–22.

8. Респираторная медицина / под ред. А.Г.Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. Т.1. 800 с.

9. Соколов Е.И., Демидов Ю.И. Газообменная функция легких у больных СД 1 типа // Тер. архив. 2008. №3. С.63–68.

10. Особенности течения хронической обструк-

тивной болезни легких у больных сахарным диабетом / Титова Е.А. [и др.] // Пульмонология. 2008. №5. С.60–65.

11. Уминский А.А., Хавстеен Б.Х., Баканева В.Ф. Биохимия флавоноидов и их значение в медицине. М.: Пушино, ООО «Фотон – век», 2007. 264 с.

12. Incidence and prevalence of diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis undergoing lung transplantation before and after lung transplantation / Hadjiliadis D. [et al.] // Clin. Transplant. 2005. Vol.19, №6. P.773–778.

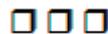
13. Pulmonary complications in diabetes mellitus / Kaparianos A. [et al.] // Chron. Resp. Dis. 2008, №5, P.101–108.

14. The role of macrophage migration inhibitory factor on glucose metabolism and diabetes / Toso C. [et al.] // Diabetologia. 2008. Vol.51, №11. P.1937–1946.

15. Willams R. J., Spencer J.P., Rice-Evans C. Flavonoids: antioxidants or signaling molecules? // Free Radic. Biol. Med. 2004. Vol.36, №7. P.838–849.

*Поступила 01.04.2011*

*Сергей Семенович Целуйко, зав. кафедрой гистологии и ЦНИЛ АГМА, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95;  
Sergey S. Tseluyko,  
95 Gorkogo Str., Blagoveshensk, 675000;  
E-mail: agma.agma@yandex.ru*



УДК 576.31:612.211-008.8(616-001.18+612.015.6)

**С.В.Зиновьев, А.П.Кондрахина, В.С.Козлова**

### **МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРИСТАЛЛОГРАММЫ НАЗАЛЬНОГО СЕКРЕТА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И БИОФЛАВОНОИДОВ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА**

*ГОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздрава России, Благовещенск*

#### **РЕЗЮМЕ**

Выполнено цитологическое и кристаллографическое исследование назального секрета у 86 здоровых лиц после холодового воздействия. При сканирующей электронной микроскопии в назальном секрете выявляется присутствие кристаллов натрия хлорида, струвитов, цистиновых кристаллов, мочевины, солей кальция. Выраженность кристаллизации назального секрета коррелирует с парциальным весом в назальной цитограмме клеток цилиндрического эпителия и сегментоядерных

лейкоцитов. Применение дигидрохверцетина приводит к достоверному снижению выраженности кристаллизации назального секрета и уменьшению содержания эпителиальных клеток. Кристаллографическая характеристика назального секрета может служить маркером воздействия низкой температуры окружающей среды на организм и оценочным критерием эффективности различных способов коррекции холодовой адаптации.

*Ключевые слова: цитологическая и кристаллографическая характеристика, назальный секрет, адаптация к холоду, биофлавоноиды.*