

О.Г.Круглова, В.А.Доровских, В.И.Тиханов, Т.Г.Круглова, И.А.Бочарникова, Д.П.Решодько

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА И ВИТАМИНА Е НА ПРОДУКТЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ХОЛОДОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ***ГОУ ВПО Амурская государственная медицинская академия Минздрава России, Благовещенск***РЕЗЮМЕ**

Исследована возможность коррекции свободно-радикального окисления липидов мембран в условиях холодового воздействия при использовании дигидрокверцетина и витамина Е. Установлено, что применение дигидрокверцетина *per os* в дозе 0,1 мг/кг приводит к более выраженному снижению уровней продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов, гидроперекисей, малонового диальдегида) в крови экспериментальных животных в сравнении с введением витамина Е *per os* в дозе 30 мг/кг.

*Ключевые слова:* холодовое воздействие, продукты перекисного окисления липидов, дигидрокверцетин.

**SUMMARY**

O.G.Kruglova, V.A.Dorovskikh, V.I.Tikhanov, T.G.Kruglova, I.A.Bocharnikova, D.P.Reshodko

**COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF DIHYDROQUERCETIN AND VITAMIN E EFFECT ON LIPID PEROXIDATION PRODUCTS IN THE BLOOD OF LABORATORY ANIMALS AT COLD INFLUENCE**

The possibility of correction of free-radical membranes lipid peroxidation at cold influence and introduction of dihydroquercetin and vitamin E has been studied. It was established that the use of dihydroquercetin *per os* in the dose 0.1 mg/kg leads to a more significant decrease of lipid peroxidation products levels (dien conjugates, hydroperoxides, MDA) in the blood of the animals under experiment in comparison with introduction of vitamin E *per os* in the dose 30 mg/kg.

*Key words:* cold influence, lipid peroxidation products, dihydroquercetin.

Известно, что при охлаждении организма происходит усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), нарушение координации компонентов антиоксидантной системы. Угнетение практически всех клеток организма при активации ПОЛ обусловлено снижением в них активности окислительно-восстановительных и активизацией гидролитических ферментов, развитием тканевой гипоксии, снижением энергетических ресурсов, нарушением регуляторных внутриклеточных механизмов [4].

Многочисленные экспериментальные и клинические наблюдения свидетельствуют о том, что повышение в живой системе уровня антиоксидантов путем их дополнительного введения всегда даёт выраженное

возрастание устойчивости организма к различным воздействиям, стимулирующим процессы ПОЛ в биомембранах [8, 9, 10]. К наиболее изученным в настоящее время антиоксидантам относятся токоферолы. Последние имеют растительное происхождение, в организм попадают с пищей, обладают свойством встраиваться во все мембраны. Из 8 существующих видов токоферолов наибольшей активностью обладает альфа-токоферол – витамин Е [1, 2], причем хромановое кольцо токоферола, по-видимому, ответственно за его антирадикальный, а фитильная боковая цепь – за мембраностабилизирующий эффект [3].

Перспективным направлением, разрабатываемым в последние годы, является использование природных соединений, обладающих широким спектром действия и лишенных ряда недостатков, присущих искусственно синтезированным химическим веществам. Из новых природных соединений, привлекающих внимание исследователей, можно назвать препарат дигидрокверцетин, выделенный из клеточных стенок лиственницы сибирской (*Larix occidentalis*). Дигидрокверцетин компании «Аметис» (Россия) выпускается согласно установленным техническим условиям ТУ 9325–001–70692152–07.

Цель исследования – выяснить возможность коррекции свободно-радикального окисления липидов мембран в крови экспериментальных животных при помощи дигидрокверцетина и витамина Е в условиях холодового воздействия, определить степень их корректирующего влияния на процессы ПОЛ.

**Материалы и методы исследования**

Исследование проводили на 36 белых крысах самцах массой 180–220 г. Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария Амурской государственной медицинской академии, при естественном световом режиме, без ограничения доступа к воде и пище. 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 лабора-

торной практики». Исследование одобрено Этическим комитетом Амурской государственной медицинской академии.

Животные были распределены на группы по 6 крыс в каждой: 1 группа – интактные животные, которые содержались в стандартных условиях вивария, 2 группа – контрольная, где на крыс оказывали холодовое воздействие в климатической камере «Fentron» (Германия) при температурном режиме  $-15^{\circ}\text{C}$  по три часа ежедневно в течение 7 дней; в 3, 4 и 5 группах осуществляли холодовое воздействие в течение 7 дней на фоне введения дигидрокверцетина (Аметис, Россия) в дозах 0,1 мг/кг, 1 мг/кг, 10 мг/кг, соответственно; 6 группа включала животных, на которых воздействовали холодом и *per os* вводили токоферол (витамин Е) в дозе 30 мг/кг. Дигидрокверцетин крысы также получали *per os* с помощью зонда, препарат предварительно растворяли в теплой воде. При завершении 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)»). Определение содержания диеновых конъюгатов (ДК), гидроперекисей липидов (ГП), малонового диальдегида (МДА) в крови крыс проводилось по методам И.Д.Стальной и соавт. [5, 6, 7]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и по критерию Стьюдента (*t*) с использованием программы Statistica v.6.0. Результаты считали достоверными при  $p < 0,05$ .

#### Результаты исследования и их обсуждение

В результате выполненного исследования установлено, что семидневное охлаждение организма крыс приводит к выраженному увеличению концентрации продуктов ПОЛ в крови животных контрольной группы в сравнении с интактными крысами (табл.).

Таблица

Содержание продуктов ПОЛ в крови экспериментальных животных на 7 день охлаждения на фоне введения дигидрокверцетина (ДКВ) и витамина Е ( $M \pm m$ )

| Группы животных                                 | Показатели          |                     |                      |
|-------------------------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
|                                                 | МДА, нмоль/мл       | ГП, нмоль/мл        | ДК, нмоль/мл         |
| Интактные крысы                                 | 1,314 $\pm$ 0,064   | 5,551 $\pm$ 0,093   | 134,961 $\pm$ 3,3    |
| Воздействие холодом (контрольная группа)        | 2,914 $\pm$ 0,037*  | 9,825 $\pm$ 0,068*  | 295,042 $\pm$ 6,7*   |
| ДКВ в дозе 0,1 мг/кг и воздействие холодом      | 1,875 $\pm$ 0,024** | 2,135 $\pm$ 0,07**  | 57,308 $\pm$ 6,0**   |
| ДКВ в дозе 1 мг/кг и воздействие холодом        | 1,775 $\pm$ 0,017** | 5,572 $\pm$ 0,129** | 123,887 $\pm$ 1,59** |
| ДКВ в дозе 10 мг/кг и воздействие холодом       | 1,644 $\pm$ 0,018** | 6,064 $\pm$ 0,082** | 123,427 $\pm$ 4,5**  |
| Витамин Е в дозе 30 мг/кг и воздействие холодом | 1,763 $\pm$ 0,02**  | 4,586 $\pm$ 0,057** | 91,809 $\pm$ 1,6**   |

Примечание: \* – уровень значимости различий показателей по сравнению с группой интактных животных ( $p < 0,001$ ); \*\* – уровень значимости различий показателей по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$ ).

Так, при воздействии холода содержание ДК и МДА в крови животных статистически достоверно повысилось более чем в 2 раза, а концентрация ГП – в 1,2 раза. В динамике через неделю наблюдения во всех изучаемых группах независимо от используемого препарата и его дозы произошло выраженное статистически достоверное ( $p < 0,001$ ) снижение средних значений содержания продуктов ПОЛ в крови животных в сравнении с контролем. При применении витамина Е через 7 дней наблюдается снижение уровня ДК на 68,9%, ГП на 53,3% и МДА на 40% в сравнении с контрольной группой животных. Однако при введении дигидрокверцетина в крови крыс наблюдалось более выраженное уменьшение содержания продуктов ПОЛ, чем при использовании витамина Е. Так, в экспериментальных группах, где дигидрокверцетин вводили в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, наблюдали снижение уровня ДК в крови на

58% в обеих группах, содержание ГП уменьшилось 44 и 38,3%, концентрация МДА – на 39 и 44%, соответственно. Кроме того, в группе, где дигидрокверцетин применяли в самой низкой дозе – 0,1 мг/кг, установлено более выраженное снижение содержания ДК в крови экспериментальных животных на 80%, ГП на 79%, МДА на 35,7% в сравнении с контролем. Для объяснения установленного факта потребуются проведение дополнительных исследований с формированием более крупных выборок лабораторных животных. Вместе с тем совершенно очевидно, что введение дигидрокверцетина в указанной дозе имеет статистически достоверное ( $p < 0,001$ ) преимущество в снижении концентрации ГП и ДК в крови крыс по отношению к витамину Е.

Таким образом, нами экспериментально подтверждена возможность применения дигидрокверцетина в

качестве антиоксиданта в условиях воздействия низких температур.

### Выводы

1. Семидневное охлаждение организма крыс приводит к выраженному увеличению концентрации продуктов ПОЛ в крови животных. Пероральное применение дигидрокверцетина в дозах 0,1 мг/кг, 1 мг/кг, 10 мг/кг массы тела животного и витамина Е в дозе 30 мг/кг приводит к достоверному снижению содержания продуктов ПОЛ в крови крыс на седьмой день холодового воздействия.

2. Дигидрокверцетин при введении в дозе 0,1 мг/кг вызывает более выраженное снижение ГП и ДК в крови экспериментальных животных в сравнении с использованием витамина Е.

3. Дигидрокверцетин в дозе 0,1 мг/кг можно рекомендовать для снижения образования продуктов ПОЛ при холодовом воздействии.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Айдарханов Б.Б., Локшина Э.А., Ленская Е.Г. Молекулярные аспекты механизма антиокислительной активности витамина Е: особенности действия токоферолов // *Вопр. мед. химии*. 1989. Т.35, №3. С.2–9.

2. Афанасьев Ю.И., Бороныхина Т.В. Витамин Е: значение и роль в организме // *Успехи соврем. биол.* 1987. Т.104. Вып.3 (6). С.400–411.

3. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина, 1989. 367 с.

4. Гистофизиологическое состояние системы местного иммунитета дыхательных путей при охлаждении и коррекции ЭХА-раствором / Голохваст К.С. [и др.] // *Бюл. физиол. и патол. дыхания*. 2007. Вып.27. С.15–17.

5. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоционата аммония // *Современные методы в биохимии* / под ред. В.Н.Ореховича. М.: Медицина, 1977. С.64–66.

6. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Там же. С.63–64.

7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Там же. С.66–68.

8. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein / Bowry V.W. [et al.] // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol.270, №2. P.5756–5763.

9. Effect of vitamin C on antioxidant, lipid peroxidation and GSH system in the normal guinea pig heart / Rojas C. [et al.] // *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 1994. Vol.40, №5. P.411–420.

10. Tiidus P.M., Houston M.E. Antioxidant and oxidative enzyme adaptations to vitamin H deprivation and training // *Med. Sci. Sports. Exerc.* 1994. Vol.26, №3. P.354–359.

*Поступила 31.03.2011*

*Ольга Геннадьевна Круглова, старший лаборант кафедры фармакологии, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького 95;*

*Olga G. Kruglova,*

*95 Gorkogo Str., Blagoveshensk, 675000;*

*E-mail: kruglovayalo@mail.ru*



УДК 616-092.19/9:542.943.8:612.014.481

О.В.Бубинец

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОГО СТАТУСА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ АНТИОКСИДАНТОВ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЛУЧЕВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

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

### РЕЗЮМЕ

Проведены экспериментальные исследования, посвященные проблеме разработки и совершенствования лекарственных препаратов с антиоксидантным действием. Дана сравнительная характеристика иммунного статуса у животных

при хроническом лучевом воздействии на фоне применения антиоксидантных препаратов (дигидрокверцетина и тиобарбитамин-103). Зарегистрирован положительный иммуномодулирующий эффект препаратов. Исследования открывают новые свойства разрабатываемых препаратов,