

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

## ВЛИЯНИЕ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА НА ПРОДУКТЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ХОЛОДОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Амурская государственная медицинская академия,  
675000, ул. Горького, 95, тел.: 8(4116)-52-68-28, e-mail: agma@amur.ru, г. Благовещенск

В условиях Дальневосточного региона одним из важнейших стрессовых факторов, действующих на организм человека, является холод [2]. Холодовое воздействие, по данным многих авторов [7, 10, 12], рассматривается как прооксидантный фактор, в ответ на действие которого в организме активизируются симпатическая и гипофизарно-адреналовая системы с последующей активизацией липолиза, усилением генерации активных метаболитов кислорода и процессов перекисного окисления липидов, что приводит к нарушению структуры клеточных мембран [3].

Активация перекисного окисления липидов приводит к изменению структуры двойного фосфолипидного слоя мембран, конформации и взаимного расположения мембранных рецепторов, нарушению функции транспортных и канальных белков, инактивации мембранно-связанных ферментов [5]. Поэтому повреждение структуры биомембран, нарушение их функций приводит к тяжелым нарушениям жизнедеятельности клеток, которые, в свою очередь, сопровождаются развитием патологических состояний на уровне целого организма [8].

Многочисленные экспериментальные и клинические наблюдения свидетельствуют, что повышение уровня антиоксидантов путем их дополнительного введения всегда дает выраженное возрастание устойчивости организма к различным воздействиям, стимулирующим процессы перекисного окисления в биомембранах [6, 9, 11].

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*).

Целью настоящих исследований является выяснение влияния флавоноида дигидрокверцетина на содержание продуктов перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, гидроперекиси, малоновый диальдегид) в крови и гомогенате печени экспериментальных животных (крысы) на 7 и 21 дн. холодовой нагрузки.

### Материалы и методы

Исследование проводилось на белых крысах-самцах массой 180-220 г. Животные были распределены на 9 групп по шесть животных в каждой. 1 группа — интактные животные, которые содержались в стандартных условиях вивария, 2 группа — контроль 1 (на животных осуществлялось холодовое воздействие в течение 7 дн.), 3 группа — кон-

### Резюме

При холодном воздействии на теплокровный организм происходит активация процессов перекисного окисления липидов. Этот процесс отрицательно влияет не только на жизнедеятельность одной клетки, но и приводит к развитию ряда патологий целого организма. Исследована возможность коррекции свободнорадикального окисления липидов мембран в условиях холодного воздействия и при введении дигидрокверцетина. Выявлено, что введение дигидрокверцетина приводит к снижению уровней продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов, гидроперекисей, малонового диальдегида) в крови и гомогенате печени животных, на которых осуществлялось холодное воздействие.

*Ключевые слова:* дигидрокверцетин, холодное воздействие, перекисное окисление липидов, диеновые конъюгаты, гидроперекиси, малоновый диальдегид.

O.G. Kruglova, V.A. Dorovskikh, V.I. Tihanov,  
T.G. Kruglova, I.A. Bocharnikova

### THE EFFECT OF DIHYDROQUERCETIN ON THE INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES OF BIOMEMBRANES AT COLD EXPOSURE

Amur state medical academy, Blagoveshchensk

### Summary

There is an activation of peroxidized lipid oxidations processes during cold exposure on warm-blooded organism. This process negatively influences not only the vital activity of one cell, but it also leads to the development of a number of pathologies of the whole organism. The possibility of correction of free-radical lipids oxidation of membranes under conditions of cold exposure and oral introduction of dihydroquercetin have been studied. It was revealed that oral dihydroquercetins introduction results in reduction of levels of peroxidized oxidation lipids products (diene conjugates, hydroperoxide of lipids, malonic dialdehyde) in blood and animals liver homogenate which were exposed to cold influence.

*Key words:* cold influence, peroxidation of oxidation lipids, dihydroquercetin, diene conjugates, hydroperoxide of lipids, malonic dialdehyde.

троль 2 (на животных осуществлялось холодное воздействие в течение 21 дн.); 4; 5 и 6 группы — осуществлялось холодовое воздействие в течение 7 дн. на фоне введения дигидрокверцетина в дозах 0,1; 1; 10 мг/кг; в группах 7; 8

Содержание продуктов ПОЛ в крови животных на 7 дн. охлаждения на фоне введения дигидрохверцетина

Группы животных	Интактные	Контроль 1 (холод)	ДКВ 0,1 мг/кг + холод	ДКВ 1 мг/кг + холод	ДКВ 10 мг/кг + холод
МДА, нмоль/мл	1,314 ±0,064 p<0,05	2,914 ±0,037 p <sub>1,2</sub> <0,05	1,875 ±0,024 p <sub>2,3</sub> <0,05	1,775 ±0,017 p <sub>2,4</sub> <0,05	1,644 ±0,018 p <sub>2,5</sub> <0,05
ГП, нмоль/мг	5,551 ±0,093 p<0,05	9,825 ±0,068 p <sub>1,2</sub> <0,05	2,135 ±0,07 p <sub>2,3</sub> <0,05	5,572 ±0,129 p <sub>2,4</sub> <0,05	6,064 ±0,082 p <sub>2,5</sub> <0,05
ДК, нмоль/мг	134,961 ±3,3 p<0,05	295,042 ±6,7 p <sub>1,2</sub> <0,05	57,308 ±6,0 p <sub>2,3</sub> <0,05	123,887 ±1,59 p <sub>2,4</sub> <0,05	123,427 ±4,5 p <sub>2,5</sub> <0,05

Примечания. P<sub>1,2</sub> — достоверность различий между контрольными и интактными животными; p<sub>2,3</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 0,1 мг/кг; p<sub>2,4</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 1 мг/кг; p<sub>2,5</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 10 мг/кг.

и 9 осуществлялось холодное воздействие в течение 21 дн. + дигидрохверцетин в дозах 0,1; 1 и 10 мг/кг соответственно. Дигидрохверцетин, предварительно растворенный в теплой воде, вводился per os с помощью зонда. Животные охлаждались в климатокамере в течение 3 ч при -15°C. Забой животных проводился путем декапитации. Определение диеновой конъюгации, гидроперекисей, малонового диальдегида (МДА) в крови и гомогенате печени крыс проводилось по методам И.Д. Стальной [6]. Статистическая обработка данных осуществлялась при помощи программы Statistica V.6.0. (StatSoft Inc., 1984-2001). Определение значимых различий между двумя независимыми выборками проводилось по U-критерию Уилкоксона-Манна-Уитни.

### Результаты и обсуждение

Семидневное охлаждение крыс приводит к достоверному повышению уровня продуктов перекисного окисления липидов в крови животных контрольной группы в сравнении с интактными (табл. 1): содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида увеличилось более чем в 2 раза, количество гидроперекисей липидов — в 1,2 раза. При введении дигидрохверцетина на фоне охлаждения животных происходит снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов в крови в сравнении с контрольной группой животных. Дигидрохверцетин в дозе 0,1 мг/кг снижал содержание диеновых конъюгатов на 80%, гидроперекисей липидов — на 79%, МДА — на 35,7%. В экспериментальных группах, в которых дигидрохверцетин вводили в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, наблюдали снижение уровня диеновых конъюгатов на 58% в обеих группах, гидроперекисей липидов — на 44 и 38,3%, малонового диальдегида — на 39 и 44% (p<0,05).

Охлаждение животных в течение семи дней так же приводит к повышению содержания продуктов перекисного окисления липидов в ткани печени крыс контрольной группы (табл. 2). Так, содержание диеновых конъюгатов увеличилось на 24,2%, гидроперекисей липидов — на 100%, малоновый диальдегид вырос на 84,3%. При введении дигидрохверцетина наблюдалось выра-

Содержание продуктов ПОЛ в гомогенате печени животных на 7 дн. охлаждения на фоне введения дигидрохверцетина

Группы животных	Интактные	Контроль 1 (холод)	ДКВ 0,1 мг/кг + холод	ДКВ 1 мг/кг + холод	ДКВ 10 мг/кг + холод
МДА, нмоль/мл	1,031 ±0,027 p<0,05	1,901 ±0,038 p <sub>1,2</sub> <0,05	0,989 ±0,023 p <sub>2,3</sub> <0,05	1,071 ±0,024 p <sub>2,4</sub> <0,05	0,905 ±0,03 p <sub>2,5</sub> <0,05
ГП, нмоль/мг	4,245 ±0,061 p<0,05	8,730 ±0,077 p <sub>1,2</sub> <0,05	2,077 ±0,035 p <sub>2,3</sub> <0,05	4,758 ±0,044 p <sub>2,4</sub> <0,05	4,978 ±0,071 p <sub>2,5</sub> <0,05
ДК, нмоль/мг	144,715 ±0,262 p<0,05	179,671 ±0,363 p <sub>1,2</sub> <0,05	120,985 ±0,54 p <sub>2,3</sub> <0,05	134,685 ±0,71 p <sub>2,4</sub> <0,05	137,252 ±0,32 p <sub>2,5</sub> <0,05

Примечания. P<sub>1,2</sub> — достоверность различий между контрольными и интактными животными; p<sub>2,3</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 0,1 мг/кг; p<sub>2,4</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 1 мг/кг; p<sub>2,5</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 10 мг/кг.

женное снижение продуктов ПОЛ в сравнении с контрольной группой. В группе животных, которые получали 0,1 мг/кг, диеновые конъюгаты снизились на 32,7%, гидроперекиси липидов — на 76,2%, малоновый диальдегид — на 48%. Содержание диеновых конъюгатов в группе животных, которым перед охлаждением вводили дигидрохверцетин в дозе 1 мг/кг, уменьшилось на 25%, гидроперекисей липидов — на 45,5%, малонового диальдегида — на 43,7% (p<0,05). В экспериментальной группе, где комбинировали охлаждение и введение препарата в дозе 10 мг/кг, происходило снижение уровня диеновых конъюгатов на 24,2%, гидроперекисей липидов — на 48,7%, малонового диальдегида — на 52,4% (p<0,05).

На 21 дн. охлаждения животных в крови контрольной группы выявлено повышение уровня диеновых конъюгатов на 17,4%, гидроперекисей липидов — на 25%, малонового диальдегида — на 27% в сравнении с интактными животными (табл. 3). Содержание диеновых конъюгатов по сравнению с контрольной группой в экспериментальных группах снизилось на 36,4% в группе, где перед охлаждением вводили дигидрохверцетин в дозе 1 мг/кг, на 13% в группе животных, где доза дигидрохверцетина составила 10 мг/кг. Снижение содержания гидроперекисей липидов наблюдалось в группе животных, получавших препарат в дозе 1 мг/кг перед охлаждением, — 33,8%, и у животных, где перед охлаждением вводили дозу 10 мг/кг, — на 22,1%. Малоновый диальдегид снизился на 7,4% при введении дигидрохверцетина 1 мг/кг и на 16,6% при введении 10 мг/кг. При введении дигидрохверцетина в дозе 0,1 мг/кг прослеживается тенденция к увеличению содержания диеновых конъюгатов на 9,5%, гидроперекисей — на 10,4%, однако малоновый диальдегид снизился на 11,5% (p<0,05).

В гомогенате печени животных, подвергнутых действию низких температур в течение 21 дн., наблюдается повышение основных показателей перекисного окисления липидов (табл. 4). Содержание диеновых конъюгатов возросло по сравнению с интактными животными на 8%, содержание гидроперекисей липидов увеличилось на 7,7%, содержание МДА — на 32,7% (p<0,05).

Содержание продуктов ПОЛ в крови животных на 21 дн. охлаждения на фоне введения дигидрохверцетина

Группы животных	Интактные	Контроль 2 (холод)	ДКВ 0,1 мг/кг + холод	ДКВ 1 мг/кг + холод	ДКВ 10 мг/кг + холод
МДА, нмоль/мл	1,771 ±0,023 p<0,05	2,254 ±0,051 p <sub>1,2</sub> <0,05	1,996 ±0,053 p <sub>2,3</sub> <0,05	2,089 ±0,028 p <sub>2,4</sub> <0,05	1,880 ±0,037 p <sub>2,5</sub> <0,05
ГП, нмоль/мг	7,143 ±0,038 p<0,05	8,927 ±0,05 p <sub>1,2</sub> <0,05	9,852 ±0,053 p <sub>2,3</sub> <0,05	5,915 ±0,075 p <sub>2,4</sub> <0,05	6,955 ±0,075 p <sub>2,5</sub> <0,05
ДК, нмоль/мг	157,103 ±3,6 p<0,05	184,347 ±2,95 p <sub>1,2</sub> <0,05	201,779 ±4,93 p <sub>2,3</sub> <0,05	117,261 ±0,85 p <sub>2,4</sub> <0,05	160,434 ±1,1 p <sub>2,5</sub> <0,05

Примечания. P<sub>1,2</sub> — достоверность различий между контрольными и интактными животными; p<sub>2,3</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 0,1 мг/кг; p<sub>2,4</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 1 мг/кг; p<sub>2,5</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 10 мг/кг.

В экспериментальных группах животных, которые подвергались охлаждению на 21 дн. на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 10 и 1 мг/кг, прослеживается повышение продуктов перекисного окисления липидов по отношению к контрольной группе. Диеновые конъюгаты возрастали на 7 и 22%, гидроперекиси липидов — на 5,6 и 16,3%, малоновый диальдегид увеличился на 36,7 и 36,4% (p<0,05). При введении дигидрохверцетина в дозе 0,1 мг/кг происходит снижение диеновых конъюгатов на 10,8%, гидроперекисей липидов — на 11,2%, малонового диальдегида — на 38,2% (p<0,05).

Таким образом, экспериментально подтверждена возможность применения препарата «Дигидрохверцетин» в качестве стресс-корректора в условиях воздействия низких температур.

#### Л и т е р а т у р а

1. Губский Ю.И., Задорина О.В., Богданова Л.А. и др. Действие антиоксидантов на перекисное окисление липидов при гипоксических состояниях // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: мат-лы II Всес. конф. - Гродно, 1991. - С. 413-414.
2. Доровских В.А., Бородин Е.А., Штарберг М.А. Фосфолипиды как антиатеросклеротические лекарственные средства // Липопротеиды. - Благовещенск, 1995. - С. 33.
3. Косолапов В.А., Островский О.В., Спасов А.А. Антиоксидантная защита и перекисное окисление липидов в тканях крыс после гипобарической гипоксии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1998. - С. 519-521.
4. Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоционата аммония, метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты, метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. - М.: Медицина, 1997. - С. 63-68; 1977. - С. 64-65.
5. Утешев Б.С., Быстрова Н.А., Бровкина И.Л. Иммуномодулирующее и антиоксидантное действие витаминов А и Е при воздушном и иммерсионном охлаждении //

Содержание продуктов ПОЛ в гомогенате печени животных на 21 дн. охлаждения на фоне введения дигидрохверцетина

Группы животных	Интактные	Контроль 1 (холод)	ДКВО 0,1 мг/кг + холод	ДКВ 1 мг/кг + холод	ДКВ 10 мг/кг + холод
МДА, нмоль/мл	0,672 ±0,019 p<0,05	0,892 ±0,013 p <sub>1,2</sub> <0,05	0,551 ±0,021 p <sub>2,3</sub> <0,05	1,217 ±0,024 p <sub>2,4</sub> <0,05	1,220 ±0,018 p <sub>2,5</sub> <0,05
ГП, нмоль/мг	6,203 ±0,011 p<0,05	6,685 ±0,014 p <sub>1,2</sub> <0,05	5,935 ±0,014 p <sub>2,3</sub> <0,05	7,778 ±0,028 p <sub>2,4</sub> <0,05	7,061 ±0,027 p <sub>2,5</sub> <0,05
ДК, нмоль/мг	124,935 ±0,364 p<0,05	134,969 ±0,269 p <sub>1,2</sub> <0,05	120,377 ±0,261 p <sub>2,3</sub> <0,05	164,671 ±0,192 p <sub>2,4</sub> <0,05	144,409 ±0,314 p <sub>2,5</sub> <0,05

Примечания. P<sub>1,2</sub> — достоверность различий между контрольными и интактными животными; p<sub>2,3</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 0,1 мг/кг; p<sub>2,4</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 1 мг/кг; p<sub>2,5</sub> — достоверность различий между контрольными животными и животными, подвергавшимися охлаждению на фоне введения дигидрохверцетина в дозе 10 мг/кг.

Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2001. - №1. - С. 60-62.

6. Bowry V.W., Mohr D., Cleary J. et al. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein // J. Biol. Chem. - 1995. - Vol. 270, №II. - P. 5756-5763.

7. Friedman B.H., Thayer J.F., Tyrrel R.A. Spectral characteristics of heart period variability during cold fact stress and shock avoidance in normal subjects // Clin. Auton. Res. - 1996. - Vol. 6, №3. - P. 147-152.

8. Halliwell B., Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance // Am. J. Clin. Nutr. - 1993. - Vol.57, №5. - P.715-725.

9. Rojas C., Cadenas S., Perez-Campo R. et al. Effect of vitamin C on antioxidant, lipid peroxidation and GSH system in the normal guinea pig heart // J.Nutr.Sci.Vitaminol. - Tokyo. - 1994. - Vol. 40, №5. - P. 411-420.

10. Shibahara N., Matsuda H., Umeno K. et al. The responses of skin blood flow, mean arterial pressure and R-R interval induced by cold simulation with cold wind and ice water // J. Auton. Nerv. Syst. - 1996. - Vol. 61, №6. - P. 109-115.

11. 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.

12. Weller A.S., Millard C.E., Stroud M.A. et al. Physiological responses to a cold, wet and windy environment during prolonged intermittent walking // Am. J. Physiol. - 1997. - Vol. 272. - Pt. 2. - №1. - P. 226-233.

**Координаты для связи с авторами:** *Круглова Ольга Геннадьевна* — ст. лаборант кафедры фармакологии АГМА, e-mail: kruglovayalo@mail.ru, тел.: 8(4162)-52-40-58; *Доровских Владимир Анатольевич* — доктор мед. наук, профессор, засл. деятель науки РФ, зав. кафедрой фармакологии АГМА, тел.: 8(4162)-52-25-52; *Тиханов Виктор Иванович* — канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии АГМА; *Круглова Татьяна Геннадьевна* — сотр. ДНЦ ФПД Сибирского отделения РАН; *Бочарникова Ирина Александровна* — аспирант кафедры фармакологии АГМА.

