

Syndrome // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41, № 5. – P. 2247-2248.

14. Gyssens I.A. Mouse Model of Established Mixed Infection Abscesses // Presented at 9th ISAP International Symposium PK/P Dat Unusual Sites of Infection Chicago, 14th December 2001 [электронный ресурс] / Dept. of Medical Microbiology & Infectious Disiases Erasmus university Medical Center Rotterdam, The Neetherlands. – Chicago 2001.

15. Heide S. Self-Inflicted Injuries // A. Forensic Medical Perspective DtschArztebl. – 2006. – Vol. 103 (40). – P. 2627-2633.

16. Heliesh S. Animal Models for Periodontal Disease // HPC Journal of Biomedicine and Biotechnology. – Vol. 2011. – P. 8.

17. Joiner K.A. quantitative model for subcutaneous abscess fomation in mice // Br. Journal exp. path. – Sept. 3. – 1979. – P. 97-107.

18. Kannangara W. Animal Model for Anaerobic Lung Abscess // Journal Infection and Immunity, Feb. –1981. – Vol. 31, № 2. – P. 592-597.

Координаты для связи с авторами: Мелконян Гегам Генрикович – заочный аспирант ДВГМУ, старший ординатор отделения плановой хирургии ФГКУ «301 ВКГ» МО РФ, тел. +7-914-165-68-86, e-mail: gegarm@yandex.ru; Коваль Алексей Николаевич – канд. мед. наук, доцент кафедры общей и факультетской хирургии ДВГМУ, e-mail: afuolle@rambler.ru; Ташкинов Николай Владимирович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой общей и клинической хирургии ДВГМУ, e-mail: taschkinov@mail.ru; Сазонова Елена Николаевна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии ДВГМУ, e-mail: sazen@mail.ru; Козут Борис Михайлович – д-р мед. наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с курсом оперативной хирургии ДВГМУ; Стрельникова Наталья Викторовна – канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ДВГМУ, e-mail: jpdom@mail.ru; Бояринцев Николай Иванович – профессор кафедры общей и клинической хирургии ДВГМУ, e-mail: nib777@yandex.ru; Лазарева Ирина Николаевна – зав. отделением патологической анатомии ФГКУ «301 ВКГ» МО РФ, e-mail: patolog_irina@mail.ru; Куликова Наталья Александровна – канд. мед. наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с курсом оперативной хирургии ДВГМУ, e-mail: natalia.kulikova@mail.ru; Митрофанова Екатерина Сергеевна – ординатор кафедры общей и клинической хирургии ДВГМУ.



УДК 612.015.11:576.355:616.31-004.6-092:615.322]:599.323.4-001.8

Е.Н. Сазонова^{1,2}, Д.В. Яковенко¹, Н.В. Самохвалов¹, Т.Б. Амиров¹, О.А. Лебедько^{2,1}

ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ, АНАБОЛИЧЕСКИЕ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОРГАНИЗМЕ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА

¹Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

²Хабаровский филиал ДНЦ ФПД – НИИ охраны материнства и детства,
680022, ул. Воронежская, 49, кор. 1, e-mail: iomid@yandex.ru, г. Хабаровск

Резюме

Целью исследования было проанализировать влияние дигидрокверцетина (ДГК) на процессы пролиферации и количество ядрышек в некоторых клеточных популяциях организма белых крыс. Пятикратное введение ДГК половозрелым белым крысам в дозе 50 мг/кг приводило к достоверному уменьшению количества ядрышек в ядрах миоцитов мышечной оболочки двенадцатиперстной кишки и glanduloцитов поджелудочной железы; увеличению субпопуляции нейронов, имеющих одно ядрышко, в неокортексе собственной теменной доли головного мозга; снижению митотической активности переднего эпителия роговицы. Хемилюминесцентный анализ выявил у животных, подвергнутых воздействию ДГК, угнетение свободнорадикального окисления в гомогенатах печени и головного мозга, а также в сыворотке крови.

Ключевые слова: дигидрокверцетин, оксидативный стресс, пролиферативные процессы, ядрышки.

EFFECT OF DIHYDROQUERCETIN ON PROLIFERATIVE AND ANABOLIC PROCESSES AND REACTIVE OXYGEN SPECIES GENERATION IN ALBINO RATS

¹Far Eastern State Medical University;

²Khabarovsk branch of federal state budgetary institution «Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration» Research Institute of Maternity and Childhood, Khabarovsk

Summary

The goal of the study was to analyze effects of dihydroquercetin on cell proliferation and the number of nucleoli in some cell populations of albino rats. Five-time intraperitoneal administration of dihydroquercetin (50 mg/kg) to the 60-days old albino rats caused significant decrease in the nucleoli number of the duodenal myocytes and pancreatic glandulocytes. Moreover, it led to increase in the proportion of neocortex neurons, which have one nucleolus, and decrease in cornea epithelium mitotic activity. Chemiluminescence analysis revealed the suppression of reactive oxygen species generation in liver and brain homogenates and blood serum of animals, which were exposed to dihydroquercetin administration.

Key words: dihydroquercetin, oxidative stress, cell proliferation, nucleoli.

Окислительный стресс является важным патогенетическим звеном развития злокачественных новообразований [7], патологии нервной [9], сердечно-сосудистой [11] и пищеварительной систем [12]. Это определило широкое использование лекарственных препаратов с антиоксидантной активностью в клинической практике [2]. Вместе с тем, чрезмерное угнетение свободнорадикального окисления нарушает функционирование системы активированных форм кислорода (АФК), как важнейших внутриклеточных мессенджеров [14]. АФК вовлечены в базовые процессы жизнедеятельности

клетки: пролиферацию, рост, апоптоз [10]. Известно угнетающее влияние антиоксидантов на клеточную пролиферацию in vitro [6]. Сведения о влиянии антиоксидантов на пролиферацию и белок-синтетическую функцию клеток в условиях целостного организма немногочисленны и противоречивы.

Целью исследования был анализ влияния дигидрокверцетина (ДГК) на процессы пролиферации и количество ядрышек в некоторых клеточных популяциях организма белых крыс.

Материалы и методы

В экспериментах использовали 3-месячных самцов белых крыс линии Wistar массой 200-250 г. Животным подопытной группы в течение 5 дней ежедневно интрабрюшинно вводили ДГК в дозе 50 мг/кг, животным контрольной группы вводили эквивалентное количество стерильного 0,9 % раствора хлорида натрия. Через 24 часа после заключительного воздействия, животных взвешивали и выводили из эксперимента путем быстрой декапитации под рауш-наркозом парами хлороформа.

Для морфологического исследования тотчас после эвтаназии извлекали и помещали в 10 % раствор формалина глазное яблоко, левое полушарие головного мозга, фрагменты печени и двенадцатиперстной кишки с головкой поджелудочной железы. Для хемилюминесцентного исследования осуществляли забор крови. С этой же целью, фрагмент печени и правое полушарие головного мозга помещали в жидкий азот с последующим гомогенизированием.

Из глазного яблока по принятой в лаборатории методике готовили тотальные препараты роговицы. На препаратах роговицы, окрашенных гематоксилином Лилли-Майера, изучали митотическую активность переднего эпителия роговицы: определяли митотический индекс (в промилле), соотношение фаз митоза и количество патологических митозов типа «мост» и «отставание хромосом» [1].

Ядрышковый аппарат гепатоцитов, glandulocytes поджелудочной железы, миоцитов двенадцатиперстной кишки, нейронов II и V слоев неокортекса собственной теменной доли и поля CA1 гиппокампа исследовали в препаратах, окрашенных по методу Ag-

NOR [4]. Подсчитывали среднее количество ядрышек в ядрах клеток, просматривая в каждой исследуемой ткани по 200 клеток.

Для интегральной оценки процессов свободнорадикального окисления в гомогенатах печени и головного мозга, а также в сыворотке крови животных использовали метод хемилюминесценции (ХМЛ), которую осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER». Определяли следующие показатели: S_{sp} – светосумма за 1 минуту спонтанной ХМЛ, величина, которая прямо коррелирует с интенсивностью генерации АФК; h – максимум амплитуды быстрой вспышки Fe^{2+} -индуцированного свечения, свидетельствующий о содержании гидроперекисей липидов; S_{ind-1} – светосумма за 2 минуты Fe^{2+} -индуцированной ХМЛ, отражающая скорость образования перекисных радикалов, преимущественно липидной природы; H – максимум амплитуды H_2O_2 -индуцированного люминол-зависимого свечения, величина которая обратно коррелирует с перекисной резистентностью субстрата; S_{ind-2} – светосумма за 2 минуты H_2O_2 -индуцированной люминол-зависимой ХМЛ, величина, которая обратно коррелирует с активностью антиоксидантной системы защиты [3].

В эксперименте было использовано 22 крысы. Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием t-критерия Стьюдента с применением программы Statistica 5.0. Различия между группами считали статистически достоверными при $p < 0,05$. Исследование было проведено на базе ЦНИЛ ДВГМУ.

Результаты и обсуждение

Пятикратное введение ДГК не вызывало изменения массы тела животных: контрольный показатель составил $236,25 \pm 25,6$ г; после введения ДГК – $241,88 \pm 20,34$ г.

Хемилюминесцентный анализ сыворотки крови подопытных животных выявил антиоксидантный эффект пятикратного введения ДГК: все исследованные параметры ХМЛ были достоверно ниже контрольных показателей (табл. 1).

Таблица 1

Показатели хемилюминесценции (в отн. ед.) различных субстратов у белых крыс, подвергнутых пятикратному введению дигидрохверцетина

	Контроль (n=11)	Дигидрохверцетин (n=11)
сыворотка крови		
S _{sp}	0,196±0,010	0,122±0,010*
S _{md1}	0,502±0,039	0,317±0,030*
h	0,157±0,008	0,129±0,005*
S _{md-2}	2,448±0,129	2,030±0,131*
H	1,886±0,120	1,258±0,084*
гомогенаты печени		
S _{sp}	0,089±0,006	0,058±0,004*
S _{md-1}	0,611±0,039	0,431±0,029*
h	0,395±0,024	0,385±0,026
S _{md-2}	4,009±0,286	3,014±0,179*
H	3,103±0,273	2,020±0,186*
гомогенаты головного мозга		
S _{sp}	0,131±0,011	0,089±0,008*
S _{md-1}	0,818±0,070	0,623±0,035*
h	0,784±0,049	0,427±0,043*
S _{md-2}	4,198±0,338	3,131±0,299*
H	3,126±0,283	2,214±0,207*

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

Антиоксидантный эффект ДГК проявлялся и на органном уровне. В гомогенатах печени подопытных животных четыре из пяти показателей ХМЛ у животных, подвергнутых введению ДГК, были достоверно ниже контрольных параметров, а в гомогенатах головного мозга имело место достоверное снижение всех показателей ХМЛ (табл. 1).

Таким образом, введение ДГК половозрелым белым крысам оказывает выраженный антиоксидантный эффект: наблюдается снижение интенсивности генерации АФК и повышение активности антиоксидантной защиты.

При подсчете среднего количества ядрышек в клеточных популяциях пищеварительной системы выявлено, что в ядрах гепатоцитов у животных, получавших ДГК, исследуемый показатель не отличался от контрольного уровня (табл. 2).

В ядрах миоцитов циркулярного слоя мышечной оболочки двенадцатиперстной кишки имело место снижение среднего количества ядрышек на 14 %. В ядрах glanduloцитов поджелудочной железы среднее количество ядрышек было снижено на 19,4 % (табл. 2).

В исследованных структурах головного мозга мы не выявили достоверных изменений среднего коли-

чества ядрышек в ядрах нейронов (табл. 2). Вместе с тем, при анализе соотношения субпопуляций ядер с разным количеством ядрышек у животных подопытной группы, было обнаружено достоверное увеличение доли одноядрышковых нейронов во II и V слоях неокортекса, а также достоверное уменьшение доли двухядрышковых нейронов во II слое неокортекса (рисунок).

Таблица 2

Количество ядрышек в ядрах клеток различных клеточных популяций подопытных животных после пятикратного введения дигидрохверцетина

	Контроль	Дигидрохверцетин
пищеварительный тракт		
Гепатоциты	2,44±0,09	2,36±0,07
Миоциты двенадцатиперстной кишки	2,06±0,05	1,77±0,06*
Гландулоциты поджелудочной железы	2,12±0,07	1,71±0,06*
головной мозг		
Неокортекс собственной теменной доли, II слой	1,82 ± 0,04	1,79 ± 0,09
Неокортекс собственной теменной доли, V слой	1,82 ± 0,05	1,76 ± 0,05
Поле СА1 гиппокампа	1,92 ± 0,02	1,88 ± 0,07

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

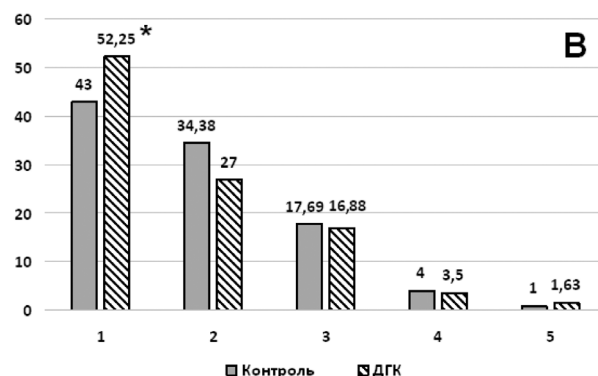


Рис. Гистограмма субпопуляций ядер нейронов с разным количеством ядрышек в неокортексе белых крыс, подвергнутых введению дигидрохверцетина: А – II слой неокортекса собственной теменной доли; В – V слой неокортекса собственной теменной доли

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

Таким образом, в исследованных тканях пищеварительной системы и в головном мозге подопытных животных ДГК снижал активность ядрышкового организатора, что может свидетельствовать об уменьшении белок-синтетической активности клеток.

При анализе митотической активности переднего эпителия роговицы животных, подвергнутых пятикратному введению ДГК, было выявлено существенное (на 45,7 %) уменьшение среднего показателя митотического индекса (табл. 3). При анализе распределения делящихся эпителиоцитов роговицы по фазам митоза было выявлено уменьшение доли метафаз и увеличение доли телофаз. Кроме того, имело место

значительное возрастание количества патологических митозов по типу «моста» и «отставания хромосом». Фактором, влияющим на протекание митоза, может быть изменение процесса формирования веретена деления под влиянием биофлавоноида [13].

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что антиоксидантное действие ДГК в условиях *in vivo* может сопровождаться антипролиферативным и антианаболическим эффектом. Ранее нами были показаны аналогичные эффекты ДГК в первичной культуре пульмональных фибробластов [5].

Пятикратное введение ДГК половозрелым белым крысам в дозе 50 мг/кг оказывает выраженный антиоксидантный эффект: наблюдается снижение интенсивности генерации АФК и повышение активности антиоксидантной защиты в гомогенатах печени и головного мозга, а также в сыворотке крови животных.

Пятикратное введение ДГК половозрелым белым крысам приводит к уменьшению количества ядрышек

Таблица 3
Показатели митотической активности переднего эпителия роговицы белых крыс, подвергнутых введению дигидрокверцетина

	Контроль	Дигидрокверцетин
Митотический индекс (промилле)	4,57±0,30	2,48±0,37*
Профазы (%)	56,56±2,80	58,57±6,02
Метафазы (%)	22,97±3,04	14,11±2,67*
Анафазы (%)	14,21±1,91	12,41±2,14
Телофазы (%)	5,88±0,88	13,78±3,44*
Патологические митозы, %	0,380±0,158	1,13±0,32*

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к контролю.

Выводы

в ядрах миоцитов кишечника и glanduloцитов двенадцатиперстной кишки; в неокортексе собственно теменной доли мозга возрастает доля нейронов с одним ядрышком.

У белых крыс, подвергнутых пятикратному введению ДГК, выявлено снижение митотической активности переднего эпителия роговицы и возрастание доли патологических митозов.

Литература

1. Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. – Медицина, 1972. – 264 с.
2. Асташкин Е.И., Глейзер М.Г. Влияние L-карнитина на оксидативный стресс при сердечно-сосудистых заболеваниях // Вопросы неотложной кардиологии. Сборник тезисов IX Всероссийского форума. – Медицинский совет. – 2016. – Т. 10. – С. 104-110.
3. Лебедько О.А., Рыжавский Б.Я., Задворная О.В. Свободнорадикальный статус неокортекса белых крыс и его модификация экзогенными производными тестостерона // Дальневосточный медицинский журнал. – 2011. – № 4. – С. 95-99.
4. Мамаев Н.Н., Мамаева С.Е. Структура и функция ЯОР хромосом: молекулярные, цитологические, клинические аспекты // Цитология. – 1992. – № 10. – С. 3-12.
5. Сазонова Е.Н., Яковенко Д.В., Лебедько О.А., Мальцева И.М., Тимошин С.С. Цитопротективный эффект дигидрокверцетина в первичной культуре пульмональных фибробластов белых крыс в условиях оксидативного стресса // Дальневосточный медицинский журнал. – 2015. – № 4. – С. 80-83.
6. Chen W., Padilla M.T., Xu X., Desai D., Krzeminski J., Amin S., Lin Y. Quercetin inhibits multiple pathways involved in interleukin 6 secretion from human lung fibroblasts and activity in bronchial epithelial cell transformation induced by benzo[a]pyrene diol epoxide // Article first published online. – 2015. – Vol. 26. – P. 26-29
7. Gupta R.K., Patel A.K., Shah N., Chaudhary A.K., Jha U.K., Yadav U.C., Gupta P.K., Pakuwal U. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2014. – Vol. 15, № 11. – P. 4405-4409.
8. Klaunig J.E., Kamendulis L.M. The role of oxidative stress in carcinogenesis // Annu Rev Pharmacol Toxicol. – 2004. – Vol. 44. – P. 239-267.
9. Matias I., Buosi A.S., Gomes F.C. Functions of flavonoids in the central nervous system: Astrocytes as targets for natural compounds // Neurochem. Int. – 2016. – Vol. 95. – P. 85-91.
10. Ray P.D., Huang B.W., Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling // Cell Signal. – 2012. – Vol. 24, № 5. – P. 981-990.
11. Siti H.N., Kamisah Y., Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease // Vascul. Pharmacol. – 2015. – Vol. 71. – P. 40-56.
12. Wang J., Yang X., Zhang J. Bridges between mitochondrial oxidative stress, ER stress and mTOR signaling in pancreatic β cells // Cell Signal. – 2016. – Vol. 28, № 8. – P. 1099-1104.
13. Zhou J., Li L.U., Fang L.I., et al. Quercetin reduces cyclin D1 activity and induces G1 phase arrest in HepG2 cells // Oncol. Lett. – 2016. – Vol. 12, № 1. – P. 516-522.

Literature

1. Alov I.A. Cytophysiology and pathology of mitosis. – Medicine, 1972. – 264 p.
2. Astashkin E.I., Gleizer M.G. Effect of L-carnitine on oxidative stress in cardiovascular diseases // Issues of Urgent Cardiology. Collection of abstracts of IX All-Russia forum. – Medical Council. – 2016. – Vol. 10. – P. 104-110.
3. Lebedko O.A., Ryzhavsky B.Ya., Zadvornaya O.V. Free radical status of neocortex of albino rats and its modification by exogenous testosterone derivatives // Far Eastern Medical Journal. – 2011. – № 4. – P. 95-99.
4. Mamaev N.N., Mamaeva S.E. The structure and the function of chromosome nucleolar organizers: molecular, cytological and clinical aspects // Cytology. – 1992. – № 10. – P. 3-12.
5. Sazonova E.N., Yakovenko D.V., Lebedko O.A., Maltseva I.M., Timoshin S.S. Cytoprotective effect of

dihydroquercetin in the initial culture of pulmonary fibroblasts of albino rats exposed to oxidative stress // Far Eastern Medical Journal. – 2015. – № 4. – P. 80-83.

6. Chen W., Padilla M.T., Xu X., Desai D., Krzeminski J., Amin S., Lin Y.. Quercetin inhibits multiple pathways involved in interleukin 6 secretion from human lung fibroblasts and activity in bronchial epithelial cell transformation induced by benzo[a]pyrene diol epoxide // Article first published online. – 2015. – Vol. 26. – P. 26-29.

7. Gupta R.K., Patel A.K., Shah N., Chaudhary A.K., Jha U.K., Yadav U.C., Gupta P.K., Pakuwal U. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2014. – Vol. 15, № 11. – P. 4405-4409.

8. Klaunig J.E., Kamendulis L.M. The role of oxidative stress in carcinogenesis // Annu Rev Pharmacol Toxicol. – 2004. – Vol. 44. – P. 239-267.

9. Matias I., Buosi A.S., Gomes F.C. Functions of fla-

vonoids in the central nervous system: Astrocytes as targets for natural compounds // Neurochem. Int. – 2016. – Vol. 95. – P. 85-91.

10. Ray P.D., Huang B.W., Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling // Cell Signal. – 2012. – Vol. 24, № 5. – P. 981-990.

11. Siti H.N., Kamisah Y., Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease // Vascul. Pharmacol. – 2015. – Vol. 71. – P. 40-56.

12. Wang J., Yang X., Zhang J. Bridges between mitochondrial oxidative stress, ER stress and mTOR signaling in pancreatic β cells // Cell Signal. – 2016. – Vol. 28, № 8. – P. 1099-1104.

13. Zhou J., Li L.U., Fang L.I., et al. Quercetin reduces cyclin D1 activity and induces G1 phase arrest in HepG2 cells // Oncol. Lett. – 2016. – Vol. 12, № 1. – P. 516-522.

Координаты для связи с авторами: Сазонова Елена Николаевна – зав. кафедры нормальной и патологической физиологии ДВГМУ, тел. +7-924-206-34-63, e-mail: sazen@mail.ru; Яковенко Дарья Валерьевна – преподаватель кафедры нормальной и патологической физиологии ДВГМУ, тел. +7-924-115-65-18, e-mail: yakovenkodariya@yandex.ru; Самохвалов Николай Владимирович – клинический ординатор ДВГМУ, тел. +7-924-221-87-72; Амиров Тимур Булатжанович – студент 6-го курса педиатрического факультета ДВГМУ, тел. +7-914-201-52-59; Лебедько Ольга Антоновна – д-р мед. наук, директор Института охраны материнства и детства Хабаровского филиала Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания СО РАМН, e-mail: leoaf@mail.ru.

