

УДК 577.346

ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА НА ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМПОНЕНТ КРОВИ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНЫХ КРЫС**А.В. Адельянов, Т.А. Стенковая, О.А. Горобченко, О.Т. Николов,
С.В. Гагаш, Н.И. Горбенко***Кафедра биологической и медицинской физики, Харьковский национальный университет им В.Н. Каразина,**пл. Свободы 4, Харьков 61077, Украина;**e-mail: adel_vil@mail.ru*

Поступила в редакцию 12 мая 2009 г.

Принята 25 мая 2009 г.

Данная работа посвящена изучению влияния кверцетина на диэлектрические свойства компонент крови инсулинорезистентных крыс в условиях дефицита эстрогенов. Дефицит эстрогенов вызывали двусторонней овариэктомией под лёгким эфирным наркозом. В качестве исследуемых образцов использовались плазма и сыворотка крови интактных крыс популяции Вистар и крыс с патологией. Диэлектрические характеристики исследуемых образцов измерялись методом СВЧ-диэлектротометрии на рабочей частоте 9,2 ГГц. В результате проведенной работы получены значения действительной ϵ' части комплексной диэлектрической проницаемости плазмы и сыворотки крови интактных и овариэктомированных крыс, находящихся на различной диете. Показано уменьшение ϵ' в сыворотке крови овариэктомированных крыс, что может быть обусловлено накоплением в ней продуктов перекисного окисления. Рассчитаны значения разности действительных частей комплексной диэлектрической проницаемости сыворотки и плазмы с физиологическим раствором, а также плазмы с физиологическим раствором и неразведенной плазмы. Установлено уменьшение разности диэлектрической проницаемости плазмы с физиологическим раствором и неразбавленной плазмы при дефиците эстрогенов по сравнению с контролем.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: СВЧ-диэлектротометрия, сыворотка, плазма, инсулинорезистентность, овариэктомия, кверцетин, фибриноген.

Известно, что сердечно-сосудистые заболевания остаются одной из главных причин смертности среди женщин старшей возрастной категории, которая в 4 раза выше по сравнению с мужчинами при наличии метаболического синдрома на фоне сахарного диабета 2 типа. При развитии постменопаузального метаболического синдрома происходит снижение чувствительности к инсулину, а также снижается толерантность к глюкозе, последствиями чего выступают гипертония, гипертриглицеридемия, оксидативный стресс [1]. Поэтому естественное старение и наступление менопаузы можно рассматривать как инсулинорезистентное состояние.

Для коррекции дислипидемии, гипертензии, абдоминального ожирения и других отклонений, которые сопутствуют инсулинорезистентности, используют кверцетин, метформин, троглитазон, глимепирид и другие терапевтические препараты [2]. Являясь одним из природных флавоноидов, кверцетин входит в состав многих продуктов питания таких, например, как яблоки, лук, чай, вино. Недавние исследования свидетельствуют о положительном влиянии на сердечно-сосудистую систему продуктов пищеварения кверцетина [3]. Кроме того, кверцетин положительно влияет на тонус вегетативной нервной системы [4], нормализует гликемию, снижает уровень протеолиза и существенно увеличивает антиоксидантно-прооксидантный индекс [5].

Кровь человека в значительной степени составляет вода, а также находящиеся в ней форменные элементы крови, белки, азотсодержащие соединения, безазотистые органические вещества [6]. Вода крови, а также находящиеся в ней соединения и

клетки взаимосвязаны между собой: так водное окружение определяет конформационную стабильность и функциональную активность составляющих элементов крови. В свою очередь содержащиеся в крови макромолекулы могут связывать воду и влияют на её состояние. Такая взаимосвязь отражается на диэлектрических параметрах компонент крови, эффективным методом измерения которых является метод СВЧ-диэлектromетрии [7]. Целью данной работы было изучение влияния фруктозы и кверцетина на диэлектрические характеристики сыворотки и плазмы крови инсулинорезистентных крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте исследовали кровь крыс популяции Вистар, полученных из вивария института проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины интактных и с экспериментальными моделями метаболического синдрома. Дефицит эстрогенов у самок крыс вызывали двусторонней овариэктомией. Инсулинорезистентность вызывали введением сахарозы овариэктомированным животным в объёме 300 г/л с питьевой водой на протяжении 8 суток. Все экспериментальные животные были разделены на 4 группы: 1-контроль, 2-овариэктомированные, 3 - овариэктомированные + сахарная диета + плацебо, 4-овариэктомированные + сахарная диета + кверцетин в дозе 50 мг/кг массы тела. Кровь, полученную непосредственно после забоя крыс, стабилизировали раствором цитрата натрия. Для приготовления образцов плазмы кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут с последующим отбором надосадочной жидкости – плазмы. Для приготовления сыворотки в пробирку отмеряли 50 мкл CaCl_2 и 1 мл физиологического раствора и помещали ее на водяную баню при 37 °С. Через 60 секунд вводили 1 мл плазмы, перемешивали до образования фибринового сгустка, затем центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут и собирали надосадочную жидкость [8]. Поскольку сыворотка в результате осаждения фибриногена получилась разведенной физиологическим раствором 1:1, то для учёта разведения плазму крови также разводили физиологическим раствором в соотношении 1:1.

Для измерения диэлектрических параметров образцов плазмы и сыворотки крови использовался цилиндрический H_{01n} резонатор с аксиальным расположением образца на рабочей частоте 9,2 ГГц. Подробное описание метода СВЧ-диэлектromетрии дано в [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлены значения действительной части комплексной диэлектрической проницаемости ϵ' плазмы, разбавленной физиологическим раствором, и сыворотки 4 групп самок крыс. Как видно из рисунка, при отклонениях, связанных с дефицитом эстрогенов, наблюдается понижение значения ϵ' сыворотки крови по сравнению с контролем, что свидетельствует об уменьшении количества свободной воды в системе. Из экспериментальных исследований известно [10], что у овариэктомированных животных наблюдается снижение антиоксидантной системы защиты, приводящее к накоплению продуктов перекисного окисления, что и может приводить к понижению значения ϵ' . Сахарозная диета на фоне дефицита эстрогенов приводит к понижению значения ϵ' по сравнению с интактными образцами, но менее существенно, чем при отсутствии сахарозной диеты. При наличии в рационе у инсулинорезистентных крыс кверцетина существенных изменений в значении ϵ' по сравнению с контролем не наблюдается. Кроме того из рисунка 1 следует, что дефицит эстрогенов у самок крыс и сахарозная диета приводят к понижению значения диэлектрической проницаемости плазмы по сравнению с контрольными образцами.

Добавление к сахарозной диете кверцетина также приводит к уменьшению значения диэлектрической проницаемости ϵ' по сравнению с контролем, которое, однако, не столь велико, как у не получавших кверцетин крыс. Значение диэлектрической проницаемости ϵ' зависит от количества свободной воды в системе, которое в свою очередь зависит от ряда факторов: концентрации различных ионов, количества растворённых в ней белков, степени гидратации этих белков, а также от разведения исходного раствора. Ионный состав системы (сыворотки, плазмы) также зависит от состояния клеток крови, которые были удалены после центрифугирования. Поэтому наблюдаемый характер изменения ϵ' плазмы и сыворотки при инсулинорезистентности и терапии кверцетином может быть обусловлен некоторыми из приведённых выше факторов.

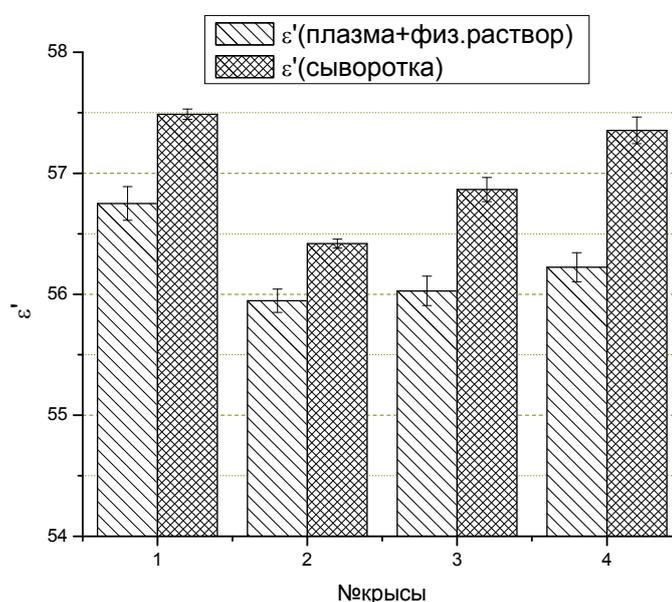


Рис. 1. Значения действительной части ϵ' комплексной диэлектрической проницаемости плазмы и сыворотки 4 групп самок крыс: 1–интактная, 2–овариэктомия, 3–овариэктомия+сахароза+плацебо, 4–овариэктомия+сахароза+кверцетин.

Для оценки вклада фибриногена в значение диэлектрической проницаемости плазмы вычисляли разность между действительными частями комплексной диэлектрической проницаемости сыворотки и плазмы, разбавленной 1:1 физиологическим раствором (рис. 2.). На рисунке 2 представлены также значения разностей диэлектрических проницаемостей плазмы, разбавленной физиологическим раствором, и неразбавленной плазмы 4 групп самок крыс. Как видно из рисунка 2, имеет место понижение $\Delta\epsilon'$ для сыворотки и плазмы, разбавленной физиологическим раствором, а также плазмы, разбавленной физиологическим раствором при дефиците эстрогенов. Пониженное значение разности $\Delta\epsilon'$ для сыворотки и плазмы с физиологическим раствором по сравнению с контролем может свидетельствовать об уменьшении количества фибриногена в плазме крови и/или понижении его гидратационных свойств. Кормление сахарозой приводит к незначительному изменению в значении разностей $\Delta\epsilon'$ сыворотки и плазмы с физиологическим раствором, а также плазмы с физиологическим раствором и плазмы. Добавление к сахарозной диете кверцетина приводит к увеличению разностей $\Delta\epsilon'$ по сравнению с контрольными образцами.

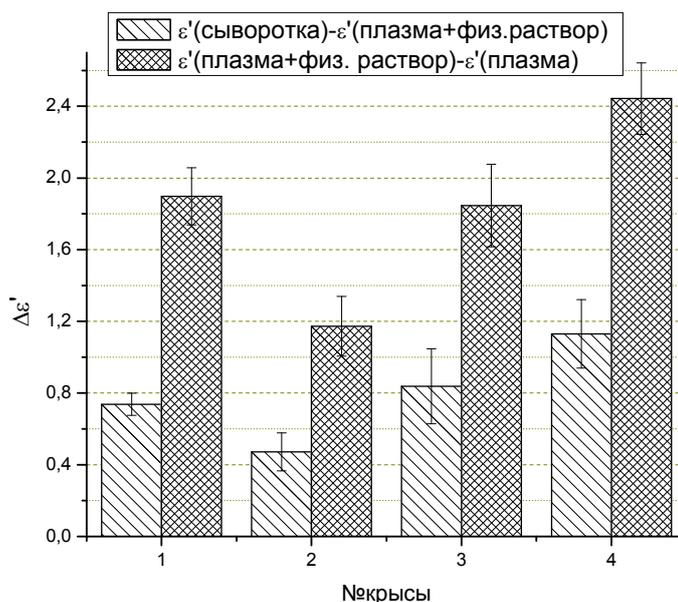


Рис. 2. Значения разности действительных частей комплексной диэлектрической проницаемости сыворотки и плазмы с физ. раствором, а также плазмы с физраствором и плазмы 4 групп самок крыс: 1–интактная, 2–овариэктомия, 3–овариэктомия+фруктоза+плацебо, 4–овариэктомия+фруктоза+кверцетин.

Разность значений ϵ' для плазмы, разбавленной физиологическим раствором, и неразбавленной плазмы характеризует способность плазмы связывать дополнительное количество воды при разведении. Уменьшение этой разности у овариэктомизированных крыс свидетельствует об увеличении количества связываемой воды растворёнными в плазме веществами, что может быть обусловлено увеличением их концентрации в плазме крови. Накопление растворённых в плазме веществ, вероятно, вызвано ослаблением антиоксидантной системы защиты при овариэктомии, чему сопутствует индуцированный дефицит эстрогенов [10].

Выводы

Показано, что дефицит эстрогенов у овариэктомизированных крыс может приводить к уменьшению значения действительной части комплексной диэлектрической проницаемости, что вероятно связано с накоплением в плазме и сыворотке крови продуктов перекисного окисления, способных связывать дополнительное количество молекулы воды. Установлено уменьшение разности действительной части комплексной диэлектрической проницаемости плазмы, разбавленной физиологическим раствором, и неразбавленной. Лечение препаратом, содержащим кверцетин, приводит к восстановлению данных параметров относительно групп больных крыс, не получавших кверцетин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Park S.M., Park C.H., Wha J.D., Choi S.B. A high carbohydrate diet induces insulin resistance through decreased glucose utilization in ovariectomized rats // Korean J. Intern. Med. – 2004. – Vol. 19, No. 2. – P. 87-92.
2. Фармакотерапия СД 2 типа [Электронный ресурс]: Кафедра эндокринологии Института общей практики – семейной медицины (г. Киев), - Режим доступа: [Chttp://www.endo.com.ua/diabetes.files/diabetes_treatm_tabl.html](http://www.endo.com.ua/diabetes.files/diabetes_treatm_tabl.html)

3. Low dose of flavonoid in food lowers heart disease risk [Электронный ресурс]: Institute of food research, - Режим доступа: <http://www.ifr.ac.uk/Media/NewsReleases/071030Quercetin.html>
4. Эффективность водорастворимой формы кверцетина (Корвитина) при лечении острого коронарного синдрома с элевацией сегмента ST [Электронный ресурс]: Медицинская газета «Здоров'я України», - Режим доступа: <http://www.health-ua.com/articles/671.html>
5. Влияние биофлавоноидов на биохимические показатели сыворотки крови крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2-го типа [Электронный ресурс]: Міжнародний ендокринологічний журнал, - Режим доступа: <http://endocrinology.mif-ua.com/archive/issue-3389/article-3395>
6. Кровь [Электронный ресурс]: Лаборатория Пространств, - Режим доступа: http://www.galactic.org.ua/clovo/f_k2.htm
7. Nacl E.V., Gatash S.V., Nikolov O.T. Using UHF-dielectrometry to study protein structural transitions. // J. Biochem. Biophys. Methods. – 2005. – V. 63, No. 5052. – P. 137-148.
8. Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. – М., 1975. – 384 с.
9. Николов О.Т., Жилиякова Т.А. Измерение комплексной диэлектрической проницаемости жидких диэлектриков с большими потерями // Журнал физической химии. – 1991. – Т.65, №5. – С. 1417-1420.
10. Kankofer M., Radzki R.P., Bieńko M., Albera E. Anti-oxidative/oxidative status of rat liver after ovariectomy // J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med. – 2007. – Vol. 54, № 5. – P. 225-229.