

Влияние дигидрокверцетина на поведение потомства белых крыс с наследственным химическим грузом

Е.А. Капустина, Л.Г. Лисецкая

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»,
12а микрорайон, д. 3, г. Ангарск, Иркутская область, 665827, Российская Федерация

Резюме: *Введение.* Свинцовое загрязнение окружающей среды является распространенной экологической проблемой. Не имея никаких физиологических функций, токсикант оказывает политропное негативное влияние на организм, в том числе нейротоксическое и трансгенерационное, обладает репродуктивной токсичностью. Механизм токсичности свинца – окислительный стресс. Активными антиоксидантными свойствами обладают флавоноиды. Они широко представлены в растительных продуктах питания, способны восстанавливать защитные возможности клетки и обладают хелатирующими свойствами по отношению к свинцу. Одним из представителей данной группы веществ является дигидрокверцетин. Целью исследования являлось изучение влияния дигидрокверцетина (ДГК) на поведение крыс с наследственным химическим грузом, затравленных свинцом в режиме 60 мг/кг в течение 25 дней. *Материалы и методы.* Поведение особей изучено в открытом поле, определено содержание свинца в крови. Определение содержания свинца в крови крыс проводили атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией. Для статистической обработки использован U-критерий Манна – Уитни. *Результаты исследования.* В настоящем эксперименте воздействие свинца на потомство самцов белых крыс в режиме 60 мг/кг в течение 25 дней вызвало изменения в активности животных в открытом поле. Выраженность изменений была более яркой у особей с наследственным химическим грузом. У этих особей выявлены снижение ориентировочной и двигательной активности, повышенная тревожность. У крыс с наследственным грузом выявлены изменения в поведении при применении ДГК. Активность особей имела положительную динамику: статистически значимо увеличилась двигательная активность, ориентировочное поведение. Количество и длительность поведенческих актов приближались к контрольным значениям. *Выводы.* Выявленные эффекты воздействия свинца на потомство белых крыс с химическим трансгенерационным грузом требуют дальнейшего изучения для понимания механизма явления.

Ключевые слова: свинец, белые крысы, потомство, трансгенерационный эффект, открытое поле, дигидрокверцетин, интоксикация, поколение.

Для цитирования: Капустина Е.А., Лисецкая Л.Г. Влияние дигидрокверцетина на поведение потомства белых крыс с наследственным химическим грузом // Здоровье населения и среда обитания. 2020. № 2 (323). С. 38–41. DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-323-2-38-41>

Effects of Dihydroquercetin on Behavior of Albino Rat Offspring with Transgenerational Chemical Body Burden

E.A. Kapustina, L.G. Lisetskaya

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research,
3 12a Microdistrict, Angarsk, Irkutsk Region, 665827, Russian Federation

Abstract: *Introduction.* Lead pollution is a common environmental problem. Having no physiological functions, this toxicant has a negative polytropic impact on a body, including neurotoxic, reproductive, and transgenerational effects. The mechanism of lead toxicity is oxidative stress. Flavonoids have active antioxidant properties. They are widely represented in plant foods, are able to restore protective capabilities of cells and have chelating properties with respect to lead. One of the representatives of this group of substances is dihydroquercetin. The objective was to study the effect of dihydroquercetin on behavior of rats with hereditary chemical body burden exposed to lead at 60 mg/kg during 25 days. *Materials and methods.* We studied the behavior of rat offspring in an open field and established their blood lead levels by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. For statistical processing the U-Mann – Whitney test was used. *Results.* In the present experiment, the effect of lead on the offspring of male albino rats exposed to 60 mg/kg of lead for 25 days caused changes in the activity of animals in the open field. The severity of changes was more pronounced in animals with a hereditary chemical body burden. These animals showed a decrease in orientation and physical activity and increased anxiety. In rats with a hereditary burden, changes in behavior were detected when administering dihydroquercetin. The activity of animals demonstrated a positive dynamics: we observed a statistically significant increase in physical activity and orientation. The number and duration of behavioral acts approached control values. *Conclusions.* The revealed effects of lead on the offspring of albino rats with a transgenerational chemical body burden require further study to understand the mechanism of the phenomenon.

Key words: lead, albino rats, offspring, transgenerational effect, open field, dihydroquercetin, intoxication, generation.

For citation: Kapustina EA, Lisetskaya LG. Effects of Dihydroquercetin on Behavior of Albino Rat Offspring with Transgenerational Chemical Body Burden. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2020; 2(323):38–41. (In Russian) DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-323-2-38-41>

Information about the authors: Kapustina E.A., <https://orcid.org/0000-0002-2803-4048>; Lisetskaya L.G., <https://orcid.org/0000-0002-0876-2304>.

Введение. По данным ВОЗ, свинец широко распространен в окружающей среде – в воздухе, почве и воде. В промышленно развитых странах токсикант использовался или используется сейчас для изготовления различных видов продукции (бензина, красок, стекла и посуды), в металлургической промышленности, производстве аккумуляторов и др. Так, в США свинцовая краска в старых домах – один из основных источников токсиканта. Невозможно полностью устранить свинцовое загрязнение из окружающей среды [1].

Свинец, не обладающий какой-либо известной физиологической функцией, является политропным ядом. Он легко проникает через гематоэнцефалический барьер и нарушает функционирование центральной нервной системы, что приводит к различным нарушениям поведения [2]. Свинец обладает и репродуктивной токсичностью по отношению к мужской половой системе: количество, подвижность и активность сперматозоидов снижаются после воздействия токсиканта [3, 4].

В наших предыдущих исследованиях выявлено, что воздействие свинца на самцов белых

крыс приводит к нарушению поведения у их потомства: у особей наблюдается снижение двигательной и ориентировочной активности в открытом поле [5]. Таким образом, у токсиканта проявляется и трансгенеративная активность.

Механизм токсичности свинца – окислительный стресс. Предложено несколько вариантов реализации окислительного стресса, вызванного этим веществом: прямое влияние на клеточные мембраны, взаимодействие с гемоглобином, генерация АФК и влияние на систему антиоксидантной защиты клеток [6, 7].

Активными антиоксидантными свойствами обладают флавоноиды. Они широко представлены в растительных продуктах питания, способны восстанавливать защитные возможности клетки и обладают хелатирующими свойствами по отношению к свинцу. Одним из представителей данной группы веществ является дигидрокверцетин (ДГК) [8].

Цель исследования. Оценить возможность коррекции изменений в поведении потомства крыс-самцов, подвергавшихся интоксикации свинцом, при воздействии ДГК.

Материалы и методы. Исследование проведено в собственном виварии ФГБНУ ВСИМЭИ на 50 беспородных белых крысах-самцах массой 240–250 г. Эксперименты на крысах проведены в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986), а также «Правилами лабораторной практики» (приказ Минздравсоцразвития от 23 августа 2010 г. № 708н). На проведение исследований получено разрешение Локального этического комитета (протокол № 3 от 14.08.18).

Экспериментальные животные были разделены на 2 группы: особи, полученные от крыс-самцов со свинцовой интоксикацией, и особи, полученные от самцов, не подвергавшихся воздействию интоксикации. Особи первой группы, в свою очередь, также поделены на 2 группы: одни получали воздействие свинца (PbF1), вторые – воздействие свинца и ДГК (PbF1 + ДГК). Крысы, полученные от самцов без интоксикации, разделены на три группы: первые подвергались воздействию свинца (Pb), вторые подвергались воздействию свинца и ДГК (Pb + ДГК) и третьи (контрольные) не получали никаких дополнительных к основному режиму вивария воздействий.

Моделирование свинцовой интоксикации у белых крыс-самцов и их потомства осуществляли путем добавления раствора ацетата свинца в питьевую воду. Крысы-самцы, от которых получено потомство, подвергались воздействию в течение 50 дней. По данным литературы, такой режим воздействия вызвал изменения в морфологии половых клеток самцов [9]. Особи из групп PbF1, PbF1 + ДГК, Pb и Pb + ДГК подвергались свинцовой интоксикации в течение 25 дней. Все животные, кроме контрольной группы, получали по 60 мг/кг в пересчете на свинец.

После окончания интоксикации было исследовано поведение крыс в открытом поле, которое позволило оценить воздействие свинца на двигательную активность и поведение животных [10].

Отбор проб крови для анализа осуществляли при декапитации животных под легким эфирным наркозом. Для предотвращения свертывания в пробирки добавляли раствор ЭДТА. Определение содержания свинца в крови крыс проводили атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией. Анализу предшествовала минерализация концентрированной азотной кислотой в специальных герметичных тefлоновых реакторах [11]. Концентрацию свинца измеряли с помощью атомно-абсорбционного спектрометра AA DuO 240Z фирмы Agilent.

Для статистической обработки результатов применяли пакет прикладных программ «Statistica 6.0» (StatSoft, лицензия № AXXR004E642326FA). Результаты приведены в виде медианы и интерквартильного диапазона, Me(Q25-Q75). Для сравнений использовали непараметрический метод U-критерий Манна – Уитни. Нулевые гипотезы об отсутствии различий между группами отвергали при достигнутом уровне значимости соответствующего статистического критерия $p \leq 0,017$ с учетом поправки Бонферрони.

Результаты исследования. Обследование потомства экспериментальных животных в открытом поле показало, что воздействие свинца в концентрации 60 мг/кг в течение 25 дней оказало слабое воздействие на активность животных группы Pb (табл. 1). У этих особей выявлено только статистически значимое снижение количества обнюхиваний по сравнению с контролем.

У крыс группы PbF1 обнаружены более выраженные изменения в поведении. Значимо меньшее по сравнению с контролем количество обнюхиваний и стоек с упором выявило угнетение исследовательского поведения животных. Больше количество актов “сидит” и меньшее количество посещенных периферических квадратов показало повышенный уровень тревожности, а меньшее количество локомоций – снижение двигательной активности.

Показатели длительности поведенческих актов подтверждали выявленную картину поведения: особи группы PbF1 были менее подвижны, чем контрольные. У первых наблюдалась значимо большая длительность актов “сидит” и меньшая – локомоций. Меньший при сравнении с контролем латентный период поведенческого акта “сидит” у животных группы PbF1 также свидетельствовал о повышенной тревожности этих животных.

Длительность и латентный период поведенческих актов у особей группы Pb не имели отличий от контроля.

Содержание свинца в крови животных групп Pb и PbF1 было ожидаемо выше контрольных значений при $p = 0,017$ (табл. 2).

Возможное влияние ДГК на поведение и содержание свинца в крови животных изучено путем сравнения соответствующих показателей у потомства с наследственным грузом и без такового, получавших только свинец и свинец и ДГК, то есть при сравнении групп Pb и Pb + ДГК, PbF1 и PbF1 + ДГК. У крыс без наследственного груза не выявлено статистически значимого влияния ДГК на поведение в открытом поле (табл. 3).

У особей с наследственным химическим грузом, получавших ДГК, обнаружены статистически

Таблица 1. Поведение потомства в открытом поле, Ме (Q25-Q75)
Table 1. Behavior of the offspring in the open field, Me (Q25-Q75)

Поведенческие акты / Behavioral acts	Группы животных / Animal groups		
	Pb	PbF1	Контроль / Control group
Количество поведенческих актов, ед. / The number of behavioral acts, units			
Обнюхивание / Sniffing	9,5 (7-11)*	5 (4-8)*	12,5 (10,5-15,5)
Сидит / Sitting	2 (1-4)	2,5 (2-4)*	1 (1-2)
Локомоции / Locomotion	6,5 (3-10)	3 (0-4)*	9,5 (8,5-13,5)
Периферические квадраты / Peripheral squares	9,5 (2-18)	0,009 3 (0-6)*	14 (10-26)
Стойка с упором / Leaning	1 (0-2)	0 (0-1)*	3 (0,5-6)
Суммарная длительность поведенческих актов, с / The total duration of behavioral acts, s			
Сидит / Sitting	65,2 (14,6-95,4)	73,0 (65,1-106,8)*	32,0 (7,7-43,2)
Локомоции / Locomotion	24,0 (7-35,9)	9,5 (0-15,4)*	35,5 (26,3-59,9)
Латентный период поведенческих актов, с / The latent period of behavioral acts, s			
Сидит / Sitting	56,3 (23,3-125,3)	36,9 (33,3-53,8)*	78,3 (63,1-104,4)

* статистическая значимость при сравнении с контролем, $p < 0,017$.

* statistical significance when compared with control, $p < 0.017$.

Таблица 2. Концентрация свинца в крови крыс, мкг/дм³
Table 2. Blood lead levels in rats, $\mu\text{g}/\text{dm}^3$

	Группа животных / Animal groups				
	Pb	Pb+ДГК / Pb+DHQ	Pb F1	Pb F1 +ДГК / PbF1+DHQ	Контроль / Control group
Содержание свинца / Blood lead	44,0(34,3-54,3)*	29,0(17,7-38,3)	35,0(32,0-39,5)*^	26,1(22,7-29,3)^	0(0-0,34)

* отличие от контроля при $p=0,017$; ^ отличие от контроля при $p = 0,02$.

* the difference from controls at $p = 0.017$; ^ the difference from controls at $p = 0.02$

Таблица 3. Поведение потомства в открытом поле, Ме (Q25-Q75)
Table 3. Behavior of offspring in the open field, Me (Q25-Q75)

Поведенческие акты / Behavioral acts	Группы животных / Animal groups			
	Без наследственного груза / Without transgenerational body burden		С наследственным грузом / With transgenerational body burden	
	Pb	Pb + ДГК / PbF1 + DHQ	PbF1	PbF1 + ДГК / PbF1 + DHQ
Количество поведенческих актов, ед. / The number of behavioral acts, units				
Обнюхивание / Sniffing	9,5 (7-11)	8 (5-11)	5 (4-8)	10 (8-12)*
Сидит / Sitting	2 (1-4)	2 (1-3)	2,5 (2-4)	3 (2-3)
Локомоции / Locomotion	6,5 (3-10)	5,5 (2-9)	3 (0-4)	7,5 (4-9)*
Периферические квадраты / Peripheral squares	9,5 (2-18)	7 (2-10)	3 (0-6)	7 (6-14)
Стойка с упором / Leaning	1 (0-2)	1 (0-1)	0 (0-1)	1,5 (0-2)
Суммарная длительность поведенческих актов, с / The total duration of behavioral acts, s				
Сидит / Sitting	65,2 (14,6-95,4)	58,6 (11,2-89,2)	73,0 (65,1-106,8)	57,2 (18,2-67,9)
Локомоции / Locomotion	24,0 (7-35,9)	19,6 (6,19-32,63)	9,5 (0-15,4)	21,1 (14,30,1)*
Латентный период поведенческих актов, с / The latent period of behavioral acts, s				
Сидит / Sitting	56,3 (23,3-125,3)	54,4 (19,6-78,9)	36,9 (33,3-53,8)	44,7 (7,31-55,06)*

* отличие от контроля при $p = 0,017$; ^ отличие от контроля при $p = 0,02$.

* the difference from controls at $p = 0.017$; ^ the difference from controls at $p = 0.02$

значимые изменения в поведении при сравнении с группой PbF1: возросло число обнюхиваний и локомоций, увеличилась длительность локомоций, что свидетельствовало о повышении двигательной активности. Также у этих особей увеличился латентный период акта "сидит", что выявило снижение тревожности.

В содержании свинца в крови экспериментальных животных прослеживалась та же тенденция, что и в поведении (табл. 2). Содержание свинца в крови особей без наследственного груза в группах Pb и Pb + ДГК не имело статистических отличий ($p = 0,08$). У особей с химическим грузом данный показатель значимо меньше в группе PbF1 + ДГК при сравнении с PbF1 ($p = 0,02$).

Обсуждение. В предыдущих работах мы выявили, что интоксикация свинцом самцов белых крыс в концентрации 60 мг/кг в течение 50 дней вызывает изменения в поведении их

потомства: у животных наблюдается снижение двигательной и ориентировочной активности в открытом поле [5]. Таким образом, у токсиканта проявляется трансгенерационное действие.

В настоящем эксперименте воздействие свинца на потомство самцов белых крыс в режиме 60 мг/кг в течение 25 дней вызвало изменения в активности животных в открытом поле. Выраженность изменений была более яркой у особей с наследственным химическим грузом. У этих особей выявлены снижение ориентировочной и двигательной активности, повышенная тревожность.

Предыдущие исследования подтверждают наличие трансгенерационного нейротоксического эффекта у свинца. Исследования Nelson B.K et al. (1997) показали нарушения исследовательского поведения, снижение физической активности у потомства самцов кроликов, подвергшихся воздействию токсиканта

в концентрации 1,9 мкмоль/л и более [12]. У крыс воздействие свинца на самцов влияло на пространственное обучение их потомства, что выразилось в увеличении времени плавания в водном лабиринте [6].

Механизм нейротоксичности широкого спектра токсикантов, действие которых опосредовано через материнский организм во время беременности, установлен. Чаще всего это непосредственное влияние вещества, проникающего через плаценту, на развивающийся плод. Воздействие токсикантов через отцовский организм менее исследовано. Одной из теорий является эпигенетическое наследование, которое приводит к аномальной экспрессии генов у потомства [13, 14]. Точный механизм возникновения изменений в поведении потомства с наследственным свинцовым грузом в настоящее время не выявлен.

Воздействие ДГК влияло на содержание свинца в крови экспериментальных животных. В группе Pb + ДГК снижение содержания токсиканта имело характер тенденции, у особей PbF1 + ДГК концентрация свинца была статистически ниже, чем в группе PbF1. ДГК обладает хелатирующими свойствами по отношению к металлам [8], этим можно объяснить снижение содержания свинца в крови экспериментальных животных.

Воздействие ДГК не оказало воздействия на особей без наследственного груза. Возможно, это связано с тем, что изменения у этих животных были не столь ярко выраженными после выбранного режима воздействия токсиканта.

У крыс с наследственным грузом выявлены изменения в поведении при применении ДГК. Активность особей имела положительную динамику: статистически значимо увеличилась двигательная активность, ориентировочное поведение. Количество и длительность поведенческих актов приближались к контрольным значениям. Выявленные изменения в активности и содержании свинца в крови у потомства с наследственным грузом могут быть связаны со свойствами ДГК – вещества, обладающего антиоксидантной и хелатирующей способностью, которые наследились на естественные приспособительные возможности организма. Известно, что адаптация к воздействию химических веществ возможна. Она происходит за счет включения защитных реакций организма – детоксикации ксенобиотиков, изыскания энергетических ресурсов для компенсаторных биохимических реакций, в том числе систем антиоксидантной защиты [15].

Выводы.

1. Воздействие свинца на самцов белых крыс с наследственным химическим грузом в режиме 60 мг/кг в течение 25 дней вызвало снижение ориентировочной и двигательной активности, повышение тревожности в открытом поле у этих особей.

2. У животных с наследственным химическим грузом при воздействии ДГК выявлены положительные статистически значимые изменения поведения в открытом поле – повышение исследовательской и двигательной активности, снижение тревожности.

3. Выявленные эффекты воздействия свинца на потомство белых крыс с химическим трансге-

нерационным грузом и способ их коррекции ДГК требуют дальнейшего изучения для понимания механизма явления, оценки возможных рисков в человеческой популяции, разработки способов профилактики и лечения патологий.

Список литературы (пп. 1–4, 6–9, 12–14 см. References)

5. Соседова Л.М., Капустина Е.А., Вокина В.А. Влияние интоксикации ацетатом свинца самцов белых крыс на функционирование нервной системы их потомства // Гигиена и санитария. 2018. Т. 97, № 10. С. 972–975.
10. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высш. шк., 1991. 399 с.
11. Дорогова В.Б., Лисецкая Л.Г., Журба О.М., и др. Атомно-абсорбционный анализ микроэлементов в биосредах и метрологические основы контроля аналитических работ. Методические указания 4.4.-99. Иркутск. 1999. 25 с.
15. Сидорин Г.И., Луковникова Л.В. Об основных механизмах адаптации к действию химических веществ // Медицина труда и промышленная экология. 2017. № 9. С. 172–173.

References

1. Hon KL, Fung CK, Leung AK. Childhood lead poisoning: an overview. *HKMJ*. 2017; 23(6):616–21. DOI: 10.12809/hkmj176214
2. Sanders T, Liu YM, Tchounwou PB. Cytotoxic, genotoxic, and neurotoxic effects of Mg, Pb, and Fe on pheochromocytoma (PC-12) cells. *Environ Toxicol*. 2015; 30(12):1445-1458. DOI: 10.1002/tox.22014
3. Pant N, Kumar G, Upadhyay AD, et al. Reproductive toxicity of lead, cadmium, and phthalate exposure in men. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2014; 21(18):11066-74. DOI: 10.1007/s11356-014-2986-5
4. Soleimanzadeh A, Kian M, Moradi S, et al. Protective effects of hydro-alcoholic extract of *Quercus brantii* against lead-induced oxidative stress in the reproductive system of male mice. *Avicenna J Phytomed*. 2018; 8(5):448-456.
5. Sosedova LM, Kapustina EA, Vokina VA. Influence of lead intoxication male albino rats on the functioning of the nervous system of their offspring. *Gigiena i sanitariya*. 2018; 97(10):972-975. (In Russian). DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-10
6. Sallmijn M, Suvisaari J, Lindbohm ML, et al. Paternal occupational lead exposure and offspring risks for schizophrenia. *Schizophr Res*. 2016; 176(2-3):560-565. DOI: 10.1016/j.schres.2016.06.004
7. Zimet Z, Bilban M, Fabjan T, et al. Lead exposure and oxidative stress in coal miners. *Biomed Environ Sci*. 2017; 30(11):841-845. DOI: 10.3967/bes2017.113
8. Peng M, Shi S, Zhang Y. The influence of Cd²⁺, Hg²⁺ and Pb²⁺ on taxifolin binding to bovine serum albumin by spectroscopic methods: With the viewpoint of toxic albumin/drug interference. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2012; 33(2):327-33. DOI: 10.1016/j.etap.2011.12.025
9. Ayinde OC, Ogunnowo S, Ogedegbe RA. Influence of vitamin C and vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2012; 13:17. DOI: 10.1186/2050-6511-13-17.
10. Buresh Ya, Bureshova O, Kh'yuston DP. Methods and main experiments on the study of the brain and behavior. Mos cow: Vysshaya shkola Publ. 1991. 399 p. (In Russian).
11. Dorogova VB, Lisetskaya LG, Zhurba OM, et al. Atomic absorption analysis of microelements in biological assays and metrological essential principles of analytical control, Irkutsk, 1999. 25 p. (In Russian).
12. Nelson BK, Moorman WJ, Schrader SM, et al. Paternal exposure of rabbits to lead: behavioral deficits in offspring. *Neurotoxicol Teratol*. 1997; 19(3):191-8.
13. Al-Juboori B, Hamdan F, Al-Salihi A. Paternal exposure to low-dose lead acetate: effect on implantation rate, pregnancy outcome, and sex ratio in mice. *Turk J Med Sci*. 2016; 46(3):936-41. DOI: 10.3906/sag-1412-62
14. Levin ED, Hawkey AB, Hall BJ, et al. Paternal THC exposure in rats causes long-lasting neurobehavioral effects in the offspring. *Neurotoxicol Teratol*. 2019; 74:106806. DOI: 10.1016/j.ntt.2019.04.003
15. Sidorin GI, Lukovnikova LV. On basic mechanisms of adaptation to chemicals action. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2017; 9:172-173. (In Russian).

Контактная информация:

Капустина Екатерина Александровна, кандидат медицинский наук, научный сотрудник лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»
e-mail: kapustinkaE@yandex.ru

Corresponding author:

Ekatereina Kapustina, PhD, Researcher, Laboratory of Biomodeling and Translational Medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research
e-mail: kapustinkaE@yandex.ru