

**Намаконова  
Виктория Сергеевна**

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РЕГЕНЕРАЦИОННОГО  
ПОТЕНЦИАЛА ЭПИТЕЛИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ЖИВОТНЫХ РАЗЛИЧНОГО  
ВОЗРАСТА ПРИ ОБЩЕМ ОХЛАЖДЕНИИ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПРИРОДНЫХ  
АНТИОКСИДАНТОВ  
(экспериментальное исследование)**

14.03.03 – патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Амурской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

**Красавина Надежда Павловна**, доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Маркелова Елена Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра нормальной и патологической физиологии, заведующий.

**Рыжавский Борис Яковлевич**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии, заведующий.

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Защита состоится 18 октября 2019 г. в 14:30 часов**

на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.199.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» и Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, д. 95.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, д. 22) и на сайте <https://cfpd.ru>.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного  
совета, доктор медицинских наук



Приходько Анна Григорьевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В настоящее время вопросы патологии органов дыхания занимают одно из ведущих мест, особенно в регионах, где на организм действуют негативные факторы внешней среды, такие как охлаждение. Низкая температура воздуха является прооксидантным фактором, угнетающим системы антиокислительной защиты организма, что приводит к значительным изменениям пролиферативных процессов в эпителии органов дыхания [Менщикова Е.Б., 2006; Нестеров Ю.В. с соавт., 2012; Янькова В.И. с соавт., 2016]. Анализ данных литературы указывает, что наиболее важными в развитии патологических процессов в легких является интенсификация реакций перекисного окисления липидов [Нестеров Ю.В. с соавт., 2003; Лукьянова Л.Д. с соавт., 2007; Аджиев Д.Д., 2010; Чумакова А.С. с соавт., 2014]. Если в молодом возрасте ткани имеют достаточно большой запас стволовых клеток, то при старении в результате уменьшения числа малодифференцированных клеток, а также за счет накопления продуктов метаболизма регенерационный потенциал эпителия снижается [Кузубова И.А. с соавт., 2017; Целуйко С.С. с соавт., 2017; Kardia E. et al., 2017]. На сегодня фундаментальных исследований по изучению влияния растительных антиоксидантных препаратов на процессы регенерации эпителия слизистой оболочки органов дыхания животных разных возрастных групп практически нет, что делает приоритетными работы в данной области. Одним из перспективных направлений коррекции антиокислительной активности на фоне общего охлаждения является применение природных антиоксидантов (дигидрохверцетин и арабиногалактан), получаемых из древесины лиственницы Гмелина (Даурская), произрастающей в Дальневосточном регионе [Целуйко С.С. с соавт., 2015; Кузубова И.А. с соавт., 2017; Фомичев Ю.П. с соавт., 2017; Andersen O.M., 2006].

Все выше изложенное определяет актуальность экспериментального исследования по изучению патофизиологических закономерностей изменений морфофункционального состояния эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и его регенерационного потенциала у животных различного возраста при воздействии низких температур, а также коррекцию этих нарушений природными антиоксидантами.

### **Степень разработанности.**

Повышение уровня антиоксидантной защиты путём дополнительного введения антиокислительных препаратов всегда даёт рост устойчивости организма к различным экстремальным воздействиям, влияющими на процессы ПОЛ [Шатилов А.В. с соавт., 2007; Янькова В.И. с соавт., 2016; Кузубова И.А. с соавт., 2017; Фомичев Ю.П. с соавт., 2017; Han R.M. et al., 2009].

Проведенный анализ отечественных и зарубежных информационных источников по теме работы выявил недостаточное освещение вопросов по оценке интенсивности ПОЛ и состояния

АОЗ периферической крови и тканях легких у животных разных возрастных групп при общем охлаждении организма.

Недостаточно освещены вопросы об особенностях морфофункционального состояния эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и развитие адаптивных реакций на клеточном уровне в ответ на действие низких температур на фоне применения природных антиоксидантов.

Отсутствуют данные о корреляционных связях между биохимическими и морфометрическими показателями, позволяющими дать патофизиологическое обоснование применения природных антиоксидантов, произрастающих в Дальневосточном регионе, как корректоров окислительного стресса в условиях общего охлаждения у животных разных возрастных групп.

**Цель исследования.** Установить патофизиологические закономерности нарушений морфофункционального состояния и регенерационной активности эпителия слизистой оболочки дыхательных путей у животных разных возрастных групп при общем охлаждении организма и коррекции нарушений перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) природными антиоксидантами.

#### **Задачи исследования**

1. Установить закономерности и особенности структурных изменений эпителия слизистой оболочки органов дыхания при общем охлаждении организма у животных в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев.

2. Оценить регенерационный потенциал клеток эпителия слизистой оболочки органов дыхания у животных разных возрастных групп при применении природных антиоксидантов (дигидрокверцетин и арабиногалактан) на фоне общего охлаждения.

3. Провести анализ состояния системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты периферической крови и ткани легкого у интактных животных в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев и выявить изменения, развивающиеся при общем охлаждении организма.

4. Оценить эффективность применения природных антиоксидантов (дигидрокверцетин и арабиногалактан) при действии на организм низкой температуры у животных разных возрастных групп путем сопоставления биохимических показателей периферической крови и тканей легкого.

5. Установить корреляционные взаимосвязи показателей системы перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты, а также клеточного состава эпителия слизистой оболочки отделов трахеи и терминальных бронхиол при введении природных антиоксидантов на фоне общего охлаждения организма у животных разных возрастных групп.

### **Научная новизна.**

Получены новые научные данные, расширяющие и углубляющие представления о влиянии низких температур на морфофункциональное состояние и регенерационную активность эпителия слизистой оболочки дыхательных путей, а также на систему ПОЛ-АОЗ у животных в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев.

Доказано, что общее охлаждение организма животных в зависимости от возраста вызывает разнонаправленную интенсификацию реакций свободнорадикального окисления в периферической крови и тканях легких, инициирующих морфологическую перестройку и функциональную активность эпителиоцитов слизистой оболочки дыхательных путей.

Описан и проиллюстрирован процесс экстрезии эпителиоцитов слизистой оболочки трахеи, проведена его оценка у интактных животных в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев, а также в условиях общего охлаждения организма и при применении природных антиоксидантов.

Впервые показана более значимая возрастзависимая коррекция системы ПОЛ-АОЗ при применении дигидрохверцетина на фоне общего охлаждения, по сравнению с арабиногалактаном, на активацию процесса регенерации, связанную с пролиферацией малодифференцированных клеток эпителия слизистой оболочки дыхательных путей.

На основе анализа корреляционных взаимосвязей системы ПОЛ-АОЗ и клеточного состава эпителия слизистой оболочки дыхательных путей получены данные о значимом влиянии дигидрохверцетина по сравнению с арабиногалактаном на антиокислительную активность периферической крови, тканей легкого и уровень регенерационного процесса эпителиоцитов у животных разных возрастных групп в условиях общего охлаждения.

На основании морфологических, морфометрических и биохимических данных обосновано применение дигидрохверцетина у лиц пожилого возраста с целью активации регенерационной активности эпителиоцитов слизистой оболочки органов дыхания в условиях общего охлаждения (Патент № 2679422).

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

На основании комплексного подхода по изучению развивающегося при действии низких температур окислительного стресса и изменений АОЗ, а также при применении на этом фоне антиоксидантных препаратов природного происхождения, получены новые научные данные о взаимосвязи между показателями системы ПОЛ-АОЗ, морфофункциональным состоянием и регенерационной активностью эпителия слизистой оболочки трахеи и терминальных бронхиол у животных разных возрастных групп.

Разработан и внедрен в научные исследования способ активации регенерационного потенциала эпителия трахеи старых крыс при общем охлаждении организма (Патент РФ №2679422).

Основные положения работы внедрены в учебный процесс в отделе образования: в лекционный курс и практические занятия на кафедрах физиологии и патофизиологии, гистологии и биологии ФГБОУ ВО Амурской ГМА и ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»; научные исследования центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России и ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания».

#### **Методология и методы исследования.**

Настоящее исследование проводилось в рамках Программы научно – исследовательских работ ФГБОУ ВО Амурской ГМА Минздрава России (№ гос.регистрации 01201353927). Для анализа регенерационной активности эпителия дыхательных путей и системы ПОЛ-АОЗ у крыс (самцов) в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев в условиях общего охлаждения организма, а также возможностей коррекции, применяли природные антиоксиданты, полученные из древесины лиственницы, произрастающей в Дальневосточном регионе (дигидрокверцетин и арабиногалактан). В проведенной работе применяли биохимические, общегистологические, гистохимические, электронно-микроскопические, электронно-гистохимический и морфометрические методы исследования. Полученные результаты регистрировались с помощью компьютерной морфометрии. Статистическая обработка полученных данных включала анализ значимости различий изучаемых показателей и их корреляций.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Действие низких температур на организм животных характеризуется зависимым от возраста развитием дисбаланса в системе перекисное окисление липидов – антиоксидантной защиты в периферической крови и тканях легких, инициирующих нарушения в структуре эпителиального пласта слизистой оболочки дыхательных путей.

2. Морфофункциональная характеристика эпителия слизистой оболочки трахеи и терминальных бронхиол при введении дигидрокверцетина на фоне общего охлаждения организма характеризуется более значимым по сравнению с арабиногалактаном возрастзависимым увеличением числа малодифференцированных клеток с высоким уровнем регенерационной активности, что обусловлено корректирующим влиянием препарата на процессы ПОЛ и АОЗ.

3. Установлены зависимые от возраста интегративные связи между параметрами системы ПОЛ-АОЗ и клеточным составом эпителия дыхательных путей у животных, свидетельствующие о более значимом антиокислительном и адаптогенном эффекте дигидрокверцетина по сравнению с арабиногалактаном, усиливающим регенерационный потенциал эпителиоцитов при общем охлаждении организма.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

На достоверность результатов проведенных экспериментальных исследований указывает их воспроизводимость, достаточный объем наблюдений у животных разных возрастных групп. Научные положения и выводы обоснованы на основании результатов, полученных при использовании современных морфологических, гистологических, гистохимических и биохимических методов, сертифицированного оборудования и реактивов, выполненных при личном участии автора. При оценке результатов исследования использована интегрированная система для комплексного статистического анализа Statistica 6.1 (Statsoft Inc., R США) с соблюдением общих рекомендаций для медицинских и биологических исследований.

Основные положения доложены и обсуждены на: XIV-й региональной научно-практической конференции с межрегиональным и международным участием (Благовещенск, 2013); X, XII, XIV Российско-Китайском фармацевтическом форуме (Благовещенск, 2013, 2015, 2017); XI и XIII Китайско-Российском форуме биомедицинских и фармацевтических наук (Харбин, 2014, 2016); XV, XVI, XVIII региональной научно-практической конференции «Молодежь XXI века: шаг в будущее» (Благовещенск, 2014, 2015, 2017); X международной научной конференции (Орел, 2017).

### **Личное участие автора**

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в получении исходных данных, апробации результатов исследования, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций по выполненной работе, оформлении текста кандидатской диссертации.

### **Публикации**

По материалам выполненных исследований опубликовано 17 печатных работ, из них 4 – в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных журналов Министерства образования и науки России, получен 1 патент на изобретение № 2679422.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 186 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, глав собственных исследований и обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Список литературы включает 229 источников, из них 85 – зарубежных.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материалы исследования.** В эксперимент включены беспородные белые крысы-самцы (142), из них «молодые» в возрасте 6-7 месяцев (70) и «старые» в возрасте 19-20 месяцев (72) (табл. 1).

Таблица 1 – Группы животных в эксперименте

№ группы	Краткая характеристика групп	Количество	
		6-7 месяцев	19-20 месяцев
1	Интактные. Животные содержались в условиях вивария в течение всего эксперимента, температура 22 °С	15	15
2	Экспериментальный контроль. Животные подвергались общему холодовому воздействию в течение 14 дней по 3 часа ежедневно при Т -15°С	18	20
3	Экспериментальные животные. В течение 14 дней, предшествующих охлаждению, животным перорально вводили дигидрокверцетин из расчета 5мг/100г. Затем крыс подвергали общему холодовому воздействию в течение 14 дней по 3 часа ежедневно при Т -15°С, продолжая введение препарата во время холодового эксперимента.	18	18
4	Экспериментальные животные. В течение 14 дней, предшествующих охлаждению, животным перорально вводили арабиногалактан из расчета 5мг/100г. Затем крыс подвергали общему холодовому воздействию в течение 14 дней по 3 часа ежедневно при Т -15°С, продолжая введение препарата во время холодового эксперимента.	19	19

Моделирование влияния низких температур на регенерационную активность слизистой оболочки дыхательных путей проводилось путём помещения экспериментальных животных в возрасте 6-7 и 19-20 месяцев в климатокамеру «ИЛКА» (Feutron), в которой соблюдались адекватные условия влажности и вентиляции с температурой -15°С, по 3 часа ежедневно, в течение 14 дней. Оценка действия природных антиоксидантов на регенерационную активность эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и систему ПОЛ-АОЗ проводилась у экспериментальных животных в возрасте 6-7 и 19-20 месяцев путем применения природных антиоксидантов, получаемых из древесины лиственницы сибирской: дигидрокверцетина («Аметис», ТУ 2455-003-4875962-04, г. Благовещенск) или арабиногалактана («Аметис», ТУ 9325-018-70692152-2012, г. Благовещенск), путем перорального введения из расчета 5мг/100г в течение 14 дней, предшествующих охлаждению. Затем крыс подвергали общему охлаждению в течение 14 дней по 3 часа ежедневно при Т -15°С, продолжая введение препарата во время холодового эксперимента.

Забой животных осуществлялся путем дислокации шейных позвонков после введения внутримышечно 1% раствора калипсола с последующим забором крови для исследования. Объектом гистологического и гистохимического исследования были два отдела слизистой оболочки трахеи, а также внутридолевые, мембранозные бронхи и терминальные бронхиолы. Биохимическому исследованию подвергалась кровь и ткани легкого животного.



**Методы исследования.** Для морфологических исследований образцы тканей трахеи и бронхов фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Окраску парафиновых срезов толщиной 5 – 10 мкм для изучения плана строения трахеи и бронхов проводили гематоксилином и эозином. Нейтральные полисахариды выявляли ШИК – реакцией по Мак-Манусу с контрольной обработкой срезов альфа-амилазой, гликозаминогликаны – альциановым синим 8 GX по Сидмэну с контрольной обработкой срезов в растворе тестикулярной гиалуронидазы (Луппа Х., 1980). Полутонкие и ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме «LKB-NOVA 8800» (Швеция). С каждого блока готовили полутонкие срезы, которые окрашивали метиленовым синим по методу Sato (Гайер Г., 1974). Исследование и фотографирование ультратонких срезов проводили на электронном микроскопе просвечивающего типа «Technai G2 Spirit Twin» (Голландия). Фотосъемка парафиновых и полутонких срезов проводилась на микроскопе «Primo star» (Zeiss, Германия). С целью изучения регенерационной активности эпителия слизистой оболочки дыхательных путей оценивали локализацию и активность щелочной фосфомоноэстеразы методом электронной гистохимии по Maehara с соавт. (Гайер Г., 1974). Морфометрический анализ проводили путем измерения показателей на полутонких срезах, окрашенных метиленовым синим. В трахее определяли высоту эпителия и ресничек, процентное соотношение различных элементов эпителия (реснитчатые, бокаловидные, промежуточные, базальные), а также оценивали миграцию тучных клеток через эпителий при подсчете на 100 мкм длины эпителиального пласта. Уровень экстрюзии эпителиальных клеток оценивали на 1000 ядер эпителиального пласта с обязательным подсчетом числа элементов с неизменными ядрами. В терминальных бронхиолах проводился подсчет числа реснитчатых клеток и клеток Клара. На электронограммах проводили измерение площади и ядра: базальных клеток в краниальном и каудальном отделах трахеи, а также клеток Клара в терминальных бронхиолах. Измерения проводили на срезах, используя световой микроскоп «Primo star» (Zeiss, Германия) и цифровую камеру окуляр модель AxioCam ERc 5s (5 МПикс., USB2.0), с помощью специальной программы количественного анализа «ZEN lite 2012 Manual».

Кровь животного и ткань легкого забирали для биохимического анализа с целью получения липидного экстракта по методу Блайя-Дайера (1975). Для оценки процессов ПОЛ в ходе эксперимента определяли содержание диеновых конъюгатов (Стальная И.Д., 1972), гидроперекисей липидов (Романова Л.А., Стальная И.Д., 1977 в модификации Бородин Е.А. с соавт., 1992), ТБК-активных продуктов (Бородин Е.А., Арчаков А.И., 1987). Состояние антиоксидантной системы оценивали по содержанию  $\alpha$ -токоферола (Киселевич Р.Ж., Скварко С.И., 1972) и церулоплазмина (Колб В.Г., Камышников В.С., 1976).

При статистическом анализе данных применяли программы Statistica 6.1 (Statsoft Inc., R

США). Различия количественных показателей между изучаемыми группами оценивали методами статистического анализа для независимых выборок с использованием t-критерия Стьюдента. Исследование связи между количественными признаками осуществляли при помощи парного коэффициента линейной корреляции Пирсона ( $r$ ), где  $r = 0,7 - 1,0$  – сильная зависимость;  $r = 0,69 - 0,3$  – умеренная зависимость;  $r > 0,29$  – слабая зависимость.

### **Результаты собственных исследований и их обсуждение.**

#### **Морфофункциональные изменения и регенеративная активность эпителия дыхательных путей у животных разного возраста при общем охлаждении организма**

Одним из важных механизмов, ответственного за морфофункциональные изменения эпителия органов дыхания, является окислительный стресс, его непрерывное прогрессирование приводит к истощению антиоксидантных факторов защиты, повреждению клеток реснитчатого эпителия дыхательных путей и развитию воспалительной реакции в легких [Ефремова А.В. с соавт., 2018; Чумакова А.С. с соавт., 2014; Янькова В.И. с соавт., 2016].

В наших исследованиях комплексный подход к изучению влияния проокислительного холодового фактора на морфологию и регенерационную активность эпителия слизистой оболочки дыхательных путей позволил установить степень устойчивости эпителиоцитов и этапы регенерации у животных в возрасте 6-7 месяцев и 19-20 месяцев.

Действие общего охлаждения на организм животных в возрасте 19-20 месяцев приводит к более значительным изменениям пролиферативных процессов в эпителии, что возможно извращает направление дифференцировки эпителиоцитов. При этом появляется мозаичная картина в структуре эпителиального пласта, что связано с возрастанием процесса апоптоза, о чем свидетельствует появление многочисленных «светлых» реснитчатых клеток, имеющих изменения ядра и органоидов. Особенно это проявляется в структуре митохондрий, а именно: увеличение размера, вакуолизация, просветление матрикса и частичное разрушение, что, по мнению ряда авторов, связано с дефицитом кислорода в клетке и часто возникает в условиях функционального напряжения [Колчинская А.З., 1997; Ерохин В.В. с соавт., 2000; Бочаров М.И., 2015].

При действии низких температур происходит перераспределение в эпителиальном пласте, снижается число промежуточных элементов в обоих отделах трахеи, как у молодых, так и старых животных (табл. 2). Уровень экструзии возрастает в краниальном отделе трахеи у молодых животных в 7 раз, у старых крыс – в 6 раз. Наиболее часто элиминации подвергаются промежуточные клетки, которые являются переходными формами в ходе развития из базальных клеток в бокаловидные и реснитчатые элементы. Количество промежуточных клеток значительно снижается, особенно в краниальном отделе трахеи у животных в возрасте 6-7

месяцев (табл. 2). Уровень экстррузии эпителиоцитов и число клеток, имеющих измененные ядра, более значительно возрастает у животных в возрасте 19-20 месяцев.

В составе эпителия растет число тучных клеток (табл. 2), часть из которых имеет многочисленные гранулы в цитоплазме, а в ряде случаев наблюдается появление гранул между эпителиоцитами в межклеточном пространстве [Белоусов Ю.Б. с соавт., 1996; Нестеров Ю.В., 2003]. Вероятно, миграция тучных клеток через эпителий является универсальным механизмом регуляции клиренса функционально отживших элементов, за счёт их выхода в просвет дыхательных путей [Абросимов В.Н. с соавт., 1994; Красавина, Н.П. с соавт., 2004]. Известно, что при действии охлаждения происходит накопление биологически активных веществ, тучные клетки, адсорбируя в своей цитоплазме избыток биогенных аминов, способствуют уменьшению их действия на ткани [Томсон В.В., 1990; Копьева Т.Н. с соавт., 1992]. Контакт тучных клеток с мембраной «светлых» эпителиоцитов приводит к активации процесса дегрануляции и разрушению гранул в эпителии. При этом освобождается большое количество биологически активных веществ, способных вызвать повреждение эпителиального барьера, изменить функциональную активность стволовых клеток и таким образом, способствовать снижению регенерационного потенциала. Повышение миграции тучных клеток при холодовом воздействии, вероятно, связано с передачей информационного воздействия на базальные (стволовые) клетки, что приводит к блокированию митозов малодифференцированных клеток в эпителии [Целуйко С.С. с соавт., 2012; Салтыкова М.М., 2016; Ge X. et all, 2013].

У старых животных при общем охлаждении организма отмечается снижение компенсаторных резервов многорядного реснитчатого эпителия, на что указывает уменьшение до минимальных значений числа базальных (камбиальных) клеток, площади самой клетки и ядра, рост количества гипертрофированных реснитчатых элементов и клеток с морфологическими признаками апоптоза (табл. 2). При оценке регенерационного потенциала эпителиального пласта использовали морфологический маркер на щелочную фосфомоноэстеразу, интенсивность реакции которой отражает функциональную активность стволовых клеток. Охлаждение организма животных вызывало изменение распределения продуктов реакции на фермент и уменьшение ее активности в мембранах базальных клеток, что свидетельствовало о снижении регенерации эпителиоцитов слизистой оболочки дыхательных путей, особенно у животных в возрасте 19-20 месяцев.

В терминальных бронхиолах число реснитчатых клеток изменяется незначительно, в то же время у животных в возрасте 19-20 месяцев чаще выявляются деструктивные изменения в цитоплазме. Отмечено значительное уменьшение площади клетки Клара и ее ядра, а также почти отсутствие в их цитоплазме секреторных гранул.

По мнению ряда авторов, появление очагов перестройки эпителия, расценивается как нарушение дифференцировки клеток, в результате действия раздражителя в период регенераторной пролиферации [Еремеева М.В., 2010; Кузубова И.А. с соавт., 2017; Sen N., 2013; Vaughan, A.E. et all, 2013]. Следовательно, при действии низкой температуры на стадии адаптивного напряжения общий план строения эпителиального пласта у животных разных возрастных групп сохраняется, однако отмечается перераспределение клеточного состава, что наиболее выражено у животных в возрасте 19-20 месяцев.

### **Морфофункциональные изменения и регенеративная активность эпителия дыхательных путей у животных разного возраста при общем охлаждении организма и коррекции природными антиоксидантами**

Одним из перспективных направлений воздействия на процессы свободнорадикального окисления, развивающегося при действии низкой температуры, является коррекция антиокислительной активности путем применения природных антиоксидантов, произрастающих в Дальневосточном регионе, таких как дигидрокверцетин или арабиногалактан [Неверова Н.А. с соавт., 2017; Фомичев Ю.П. с соавт., 2017]. Однако закономерности их действия на обменные реакции и процессы регенерации эпителиальных клеток дыхательной системы остаются малоизученными [Еремеева М.В., 2010; Павлов А.В. с соавт., 2014; Кузубова И.А. с соавт., 2017].

Дигидрокверцетин относится к группе флавоноидов, имеющих в своем составе подвижный атом кислорода, который блокирует реакции ПОЛ, может проникать в цитоплазму клеток, защищая их от повреждающего действия свободных радикалов, эффективно корректирует нарушение в различных звеньях антиоксидантной системы [Теселкин Ю.О. с соавт., 1996; Владимиров Ю.А. с соавт., 2009]. Дигидрокверцетин усиливает метаболические процессы между клетками эпителия и соединительной тканью, активирует процессы регенерации [Мельникова Н.Б. с соавт., 2002; Корулькин Д.Ю. с соавт., 2007; Владимиров Ю.А. с соавт., 2009; Фомичев Ю.П. с соавт., 2017].

Изучение вопросов пусковых факторов старения организма указывает на то, что этот процесс связан с генетической нестабильностью [Арутюнов С.Д. с соавт., 2001]. Накопление соматических мутаций в клетке, в результате воздействия эндогенных метаболитов продуктов ПОЛ, может рассматриваться как один из механизмов процесса старения [Кричковская Л.В. с соавт., 2001; Жанатаев А.К. с соавт., 2008]. Имеются доказательства, указывающие, что дигидрокверцетин обладает чрезвычайно низкой мутагенной активностью и вероятно его применение может снижать развитие мутаций клеток [Фомичев Ю.П. с соавт., 2017; Zhanataev A.K. et all, 2008; Hirpara K.V. et all, 2009].

Действие ДКВ на фоне общего охлаждения приводит к сохранению типичного плана строения эпителия, как в краниальном, так и каудальном отделах трахеи (табл. 2). В составе эпителия, особенно у молодых животных происходит уменьшение числа реснитчатых клеток, имеющих электронно-светлую цитоплазму, особенно в краниальном отделе трахеи, а также снижается количество бокаловидных клеток. У животных в возрасте 19-20 месяцев секреторная активность клеток изменяется незначительно, а продукция ШИК-позитивных веществ в составе секрета сохраняется на высоком уровне. Число промежуточных клеток в эпителиальном пласте увеличивается, особенно у животных в возрасте 6-7 месяцев. Хотя уровень экстрюзии эпителиоцитов снижается, среди элиминирующих клеток возрастает число с неизменной структурой ядра.

При введении дигидрокверцетина отмечается возрастзависимое снижение миграционной активности тучных клеток, которые располагаются в эпителии поодиночке и содержат в цитоплазме многочисленные гранулы, что положительно влияет на повышение функциональной активности стволовых клеток и рост регенерационного потенциала. Более того, это сопровождается возрастзависимым увеличением площади и размера ядра базальных клеток, а также повышением активности щелочной фосфомоноэстеразы в оболочках эпителиоцитов, что указывает на возрастание их функциональной активности и усиление процессов подготовки к митотическому делению [Граппи М.А., 1997; Целуйко С.С., 2007]. Установленное увеличение активности щелочной фосфомоноэстеразы обуславливает повышение уровня дифференцировки стволовых клеток, а также способствует восстановлению взаимосвязи с клеточным окружением.

В терминальных бронхиолах у молодых животных реснитчатые клетки чаще имеют типичный план строения, число клеток Клара возрастает, среди них часто встречаются картины митоза, что свидетельствует о повышенной функциональной активности эпителия. У животных в возрасте 19-20 месяцев уменьшается число реснитчатых клеток, но при этом умеренно увеличивается площадь клетки Клара и ее ядра, что свидетельствует о росте пролиферативной активности.

Арабиногалактан – это комплексный природный полисахарид, обладающий широким спектром биологических свойств: способен улучшать анаболические процессы в организме; снижать отрицательные эффекты свободных радикалов и продуктов ПОЛ; защищать и укреплять оболочки клеток, активировать их метаболизм и участвовать как клеточный протектор эпителия [Медведева С.А. с соавт., 2001; Фомичев Ю.П. с соавт., 2017; Ramirez R.D. et al, 2004; Showalter A.M., 2001].

Таблица 2 – Морфометрические показатели клеток эпителия слизистой оболочки трахеи и терминальной бронхиолы интактных и экспериментальных крыс

Возраст животного Вид эксперимента Показатели	6 – 7 месяцев				19 – 20 месяцев			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
	<b>Краниальный отдел</b>							
Реснитчатые клетки, %	49,4 ±0,9	46,7 ±0,4*	49,9 ±1,05^	47,1 ±0,6	44,7 ±0,7	47,1 ±0,74	50,7 ±0,82	46,8 ±0,81
Бокаловидные клетки, %	19,4 ±0,4	25,4 ±0,75**	20,2 ±0,4^^	24,1 ±0,24	21,6 ±0,5	27,2 ±0,41**	24,3 ±0,33^	22,1 ±0,35°
Промежуточные клетки, %	18,5 ±0,4	6,4 ±0,6**	13,3 ±0,7^^	9,7 ±0,3°	13,7 ±0,6	9,8 ±0,4**	10,4 ±0,35	10,1 ±0,2
Базальные клетки, %	15,1 ±0,5	17,5 ±0,55	15,4 ±0,5	15,2 ±0,4°	12,7 ±0,4	10,7 ±0,6	12,5 ±0,5^	10,8 ±0,5
Площадь базальной клетки, мкм <sup>2</sup>	32,3 ±0,27	23,7 ±0,35**	29,7 ±0,42^^	25,8 ±0,22°	30,8 ±0,32	22,7 ±0,3**	28,4 ±0,27^^	27,1 ±0,3°
Площадь ядра базальной клетки, мкм <sup>2</sup>	21,9 ±0,15	14,6 ±0,21**	20,8 ±0,38^^	18,7 ±0,18°	20,0 ±0,18	12,1 ±0,18**	21,2 ±0,5^^	19,1 ±0,4°
Экструзия эпителиальных клеток, ‰	0,74 ±0,11	5,2 ±0,4**	5,7 ±0,18^	4,7 ±0,08	1,24 ±0,2	7,4 ±0,3**	6,0 ±0,39^	4,5 ±0,28°
Тучные клетки на 100 мкм длины эпителия	1,3 ±0,09	4,2 ±0,08**	2,8 ±0,15^^	2,95 ±0,12°	0,89 ±0,08	3,1 ±0,07**	2,3 ±0,08^	2,2 ±0,09°
	<b>Кaudальный отдел</b>							
Реснитчатые клетки, %	44,9 ±0,6	51,4 ±0,7**	50,8 ±0,85	48,2 ±0,4°	43,1 ±0,5	43,9 ±0,65	47,1 ±0,5^	48,4 ±0,55°
Бокаловидные клетки, %	16,7 ±0,51	21,8 ±0,3*	17,9 ±0,5^^	22,3 ±0,42	22,1 ±0,3	26,9 ±0,24*	25,7 ±0,42	23,8 ±0,42°
Промежуточные клетки, %	21,2 ±0,5	10,3 ±0,8**	14,5 ±0,4^^	13,2 ±0,4	14,8 ±0,7	10,7 ±0,35*	12,8 ±0,38^	12,1 ±0,17°
Базальные клетки, %	14,0 ±0,4	16,1 ±0,7*	14,7 ±0,3	15,1 ±0,38	12,1 ±0,3	10,1 ±0,4*	11,4 ±0,4	12,4 ±0,3°
Площадь базальной клетки, мкм <sup>2</sup>	31,9 ±0,32	22,7 ±0,18**	25,3 ±0,2^^	24,7 ±0,3°	28,7 ±0,35	25,1 ±0,21*	25,7 ±0,48	26,4 ±0,46
Площадь ядра базальной клетки, мкм <sup>2</sup>	24,2 ±0,12	12,9 ±0,24**	20,4 ±0,52^^	17,2 ±0,38°	20,8 ±0,24	10,7 ±0,14*	18,3 ±0,6^^	14,3 ±0,18°
Экструзия эпителиальных клеток, ‰	0,92 ±0,17	4,1 ±0,25**	3,7 ±0,2^	3,9 ±0,21	1,36 ±0,17	5,8 ±0,4*	5,2 ±0,22	4,2 ±0,33°
Тучные клетки на 100 мкм длины эпителия	1,35 ±0,11	3,1 ±0,28*	2,0 ±0,32^	2,05 ±0,28°	0,77 ±0,05	2,8 ±0,09*	1,9 ±0,07^	1,9 ±0,14°
	<b>Терминальная бронхиола</b>							
Число клеток Клара на 100 мкм пласта эпителия	8,7 ±0,9	9,4 ±0,35	12,4 ±0,47^^	8,1 ±0,3	8,2 ±0,4	9,8 ±0,6	10,5 ±0,47	7,8 ±0,5°
Площадь клетки Клара, мкм <sup>2</sup>	68,3 ±2,16	60,1 ±3,42*	70,4 ±2,36^^	75,5 ±4,03°	75,1 ±1,92	57,2 ±2,2**	87,7 ±3,4^^	76,7 ±2,05°
Площадь ядра клетки Клара, мкм <sup>2</sup>	22,4 ±0,64	18,5 ±1,2**	22,8 ±0,91^	23,4 ±1,1°	23,5 ±0,58	19,4 ±2,1*	24,1 ±1,1^	23,9 ±0,95°

I – Интактные; II – охлаждение в течение 14 дней при T -15°C по 3 часа ежедневно; III – охлаждение на фоне введения дигидрокверцетина; IV – охлаждение на фоне введения арабиногалактана

\*P<0,05; \*\* P<0,01 – уровень доверительной вероятности при сравнении II и I группы

^P<0,05; ^^ P<0,01 – уровень доверительной вероятности при сравнении II и III группы

°P<0,05; °°P<0,01 – уровень доверительной вероятности при сравнении II и IV группы

В результате исследования выявлено, что применение арабиногалактана на фоне действия низких температур позволяет большинству реснитчатых клеток сохранить типичный план строения, вместе с тем, выявляются клетки, имеющие электронно-светлую цитоплазму с немногочисленными органоидами. Вышеописанная картина наиболее характерна для животных 19-20 месяцев. Экструзия эпителиоцитов более значительно снижается у старых крыс, причем, если у молодых животных большая часть элиминированных эпителиоцитов в основном представлена морфологически жизнеспособными элементами, то у животных в возрасте 19-20 месяцев, этот процесс связан с клетками, имеющих признаки апоптоза [Есев Л.И. с соавт., 2014; Селютина О.Ю. с соавт., 2017; Eisenhoffer G.T., 2012]. Кроме этого, в некоторых участках слизистой оболочки как у старых животных и, особенно у молодых, уменьшается число тучных клеток в составе эпителия (табл. 2).

Реакция на щелочную фосфомоноэстеразу, выявляется очагово в мембранах базальных клеток, что указывает на локальную высокую активность фермента, т.е. происходит интенсификация процесса дифференцировки эпителиоцитов, при этом у животных в возрасте 6-7 месяцев число базальных клеток сохраняется на более высоком уровне, чем у старых крыс. В обеих группах животных возрастает размер базальной клетки и площадь ее ядра (табл. 2).

В терминальных бронхиолах число эпителиоцитов снижается, при этом у животных в возрасте 19-20 месяцев наблюдается уменьшение числа клеток Клара, которые являются источником возобновления эпителия этого отдела. У обеих групп животных наблюдается увеличение размера клетки Клара и ее ядра, что, возможно, указывает на повышение функциональной активности.

Следовательно, введение арабиногалактана животным в возрасте 6-7 месяцев при общем охлаждении организма, позволяет в большей степени сохранить типичный план строения реснитчатых клеток, т.е. в ходе морфогенеза регенерационного процесса происходит более значительная структурно-функциональная специализация эпителиоцитов по сравнению с животными 19-20 месяцев.

### **Основные показатели системы ПОЛ-АОЗ и анализ корреляционных связей периферической крови и тканей легких у животных разных возрастных групп при введении природных антиоксидантов на фоне общего охлаждения**

Известно, что с возрастом происходит увеличение повреждающего действия ПОЛ и его продуктов, приводящих к накоплению неспецифических модификаций белков и ферментов, росту повреждений в клеточных компартментах [Анисимов В.Н. с соавт., 1999; Арсланова Д.Р., 2009]. Развивающаяся при старении гипоксия, изменяя окислительный гомеостаз в организме, может служить одним из механизмов, вызывающих активацию СРО и перекисидацию липидов

[Гусев В.А., 2000; Арутюнов С.Д. с соавт., 2001; Аджиев Д.Д., 2010]. Для получения полного представления о реакциях ПОЛ целесообразно определить взаимоотношение веществ, появляющихся на первых этапах – диеновые конъюгаты и гидроперекиси, от изменений, возникающих впоследствии [Банкова В.В., 1990, Зенков Н.К. с соавт., 2001]. Уровень реакции ПОЛ в тканях контролируется антиоксидантной системой, которая обеспечивает не только защиту от повреждающего действия свободных радикалов, но и влияет на адаптационные реакции [Аджиев Д.Д., 2010; Сыровая А.О. с соавт., 2012].

В динамике охлаждения установлен фазовый характер течения ПОЛ у экспериментальных животных разных возрастных групп. В группе животных в возрасте 6-7 месяцев охлаждение организма сопровождалось умеренным увеличением в периферической крови показателей ПОЛ. В тканях легкого уровень гидроперекисей липидов увеличивались на 20,9%, содержание  $\alpha$ -токоферола снижалось на 26,2% (табл. 3). При введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма отмечалось умеренное понижение показателей ПОЛ в периферической крови и повышение церулоплазмينا на 29,5%. В тканях легкого в данной подгруппе животных выявлено снижение уровня реакций ПОЛ на фоне увеличения содержания  $\alpha$ -токоферола на 13,1%. При введении арабиногалактана и общем охлаждении организма отмечалось менее значимое понижение в периферической крови и тканях легких показателей ПОЛ (табл. 3).

В группе животных в возрасте 19-20 месяцев общее охлаждение организма приводит к увеличению малонового диальдегида в периферической крови на 33%, диеновых конъюгатов – 25,4% и гидроперекисей липидов – 28,8%, на фоне снижения показателей антиокислительной активности. В тканях легкого содержание диеновых конъюгатов увеличивался на 24,6% на фоне понижения  $\alpha$ -токоферола на 30,6% (табл. 3). При введении дигидрохверцетина и общем охлаждении организма наиболее значимо снижался в периферической крови малоновый диальдегид на 31,8%, на фоне умеренного роста  $\alpha$ -токоферола и церулоплазмينا. Введение арабиногалактана в этом эксперименте приводило к менее значимому уменьшению в периферической крови показателей ПОЛ (табл. 3).

Дигидрохверцетин по сравнению с арабиногалактаном на фоне общего охлаждения обладает более значимым антиоксидантным эффектом, который выражается в снижении активности ПОЛ, как в периферической крови, так и в ткани легкого. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют, что охлаждение организма животных разного возраста вызывает развитие дисбаланса в системе ПОЛ-АОЗ в крови и тканях легкого. Это позволяет предположить, что нарушение прооксидантного/антиоксидантного баланса в организме животных отражает один из механизмов развития зависимых от возраста



морфофункциональных изменений эпителия дыхательных путей и его регенерационной активности при применении природных антиоксидантов.

Таблица 3 – Показатели продуктов ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легких у интактных и экспериментальных животных разных возрастных групп

Возраст животного	6 – 7 месяцев				19 – 20 месяцев			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Вид эксперимента	Периферическая кровь							
Показатели	Периферическая кровь							
Диеновые конъюгаты нмоль/мл	37,17 ±1,28	42,13 ±0,46**	34,87 ±1,82 <sup>oo</sup>	38,88 ±1,48 <sup>^</sup>	34,1 ±1,6	45,73 ±1,49**	41,27 ±1,81 <sup>o</sup>	38,29 ±1,13 <sup>^^</sup>
Гидроперекись липидов нмоль/мл	31,15 ±0,58	35,62 ±1,31**	29,7 ±0,89 <sup>oo</sup>	30,32 ±1,61 <sup>^^</sup>	27,27 ±1,37	38,3 ±1,32**	31,91 ±1,93 <sup>oo</sup>	30,69 ±0,79 <sup>^^</sup>
МДА нмоль/мл	4,13 ±0,23	5,13 ±0,22**	4,32 ±0,27 <sup>o</sup>	4,36 ±0,4 <sup>^</sup>	4,27 ±0,54	6,38 ±0,4**	4,55 ±0,88 <sup>oo</sup>	4,52 ±0,2 <sup>^^</sup>
α-токоферол нмоль/мл	42,03 ±1,97	38,07 ±0,89*	40,75 ±1,05	39,47 ±1,25	40,87 ±0,33	36,05 ±1,44*	41,51 ±0,84 <sup>o</sup>	39,92 ±1,36
Церулоплазмин мг/100мл	23,77 ±1,36	19,05 ±0,75**	27,04 ±2,12 <sup>oo</sup>	22,46 ±1,04 <sup>^</sup>	22,87 ±0,52	19,47 ±1,44*	23,06 ±1,28	19,51 ±1,03
<b>Ткани легкого</b>								
Диеновые конъюгаты нмоль/г	43,82 ±1,3	52,57 ±1,82**	38,7 ±1,36 <sup>oo</sup>	50,08 ±1,72	45,62 ±1,48	60,47 ±1,45**	52,16 ±1,67 <sup>oo</sup>	53,81 ±1,62 <sup>^</sup>
Гидроперекись липидов нмоль/г	36,12 ±1,11	45,68 ±1,25**	35,2 ±1,71 <sup>oo</sup>	40,12 ±1,66 <sup>^</sup>	39,05 ±1,56	44,6 ±1,49*	40,61 ±1,78 <sup>o</sup>	42,01 ±1,60
α-токоферол, нмоль/г	58,95 ±1,93	43,52 ±1,18**	50,07 ±2,18 <sup>o</sup>	52,11 ±1,59 <sup>^^</sup>	60,88 ±2,62	42,25 ±1,89**	49,94 ±1,77 <sup>o</sup>	47,77 ±1,51 <sup>^</sup>

I – Интактные; II – охлаждение в течение 14 дней при T -15°C по 3 часа ежедневно; III – охлаждение на фоне введения дигидрохверцетина; IV – охлаждение на фоне введения арабиногалактана

\*P<0,05; \*\* P<0,01 – уровень доверительной вероятности при сравнении II и I группы

<sup>^</sup>P<0,05; <sup>^^</sup> P<0,01 – уровень доверительной вероятности при сравнении II и III группы

<sup>o</sup>P<0,05; <sup>oo</sup>P<0,01 – уровень доверительной вероятности при сравнении II и IV группы

Данное высказывание подтверждается результатами корреляционного анализа, который позволил установить наиболее значимые связи, отражающие зависимость параметров системы ПОЛ-АОЗ, как в периферической крови, так и тканях легких, морфологией эпителиального пласта у животных разных возрастных групп при введении дигидрохверцетина и арабиногалактана на фоне общего охлаждения. Следует указать, что распад корреляционной пары или смена ее направленности и силы может служить критерием оценки срыва адаптивных взаимоотношений между показателями исследуемых систем [Углов Б.А. с соавт., 1994; Михайленко А.А. с соавт., 2000; Стручко Г.Ю. с соавт., 2012].

Введение дигидрохверцетина при общем охлаждении организма молодых животных характеризовалось увеличением числа и силы интегративных связей между параметрами системы ПОЛ-АОЗ в периферической крови и клеточным составом эпителиального пласта по сравнению с животными, которым вводили арабиногалактан (табл. 4). Это связано с

компенсацией окислительных процессов экзогенно вводимым дигидрокверцетином, усиливающим антиокислительную активность и как следствие повышающий регенерационный потенциал эпителиоцитов дыхательных путей за счет активации малодифференцированных клеток. Сравнительный корреляционный анализ, проведенный в группе животных в возрасте 19-20 месяцев показал, что при введении дигидрокверцетина отмечен менее значимый положительный эффект влияния на регенерационную активность эпителия органов дыхания, по сравнению с молодыми животными. Выявленные закономерности указывают, что дигидрокверцетин обладает выраженным возрастзависимым антиокислительным и адаптогенным эффектом, усиливающим регенерационную активность клеток эпителиального пласта дыхательных путей животных при действии холода.

Таблица 4 – Характеристика корреляционных связей между системой ПОЛ-АОЗ периферической крови и клеточным составом эпителия слизистой оболочки дыхательных путей интактных и экспериментальных животных разных возрастных групп

Возраст	6 – 7 месяцев				19 – 20 месяцев				
	Вид эксперимента	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<b>Межсистемные корреляционные связи</b>									
ДК – число БК	-	-0,47	<b>-0,74</b>	-0,50	-0,40	-	-	-	-
ДК – площадь БК	-	<b>-0,74</b>	<b>-0,74</b>	-0,53	-	-	-0,54	0,43	-
ДК – площадь ядра БК	-	-	-0,56	-0,61	-	0,5	-0,58	-	-
ДК – площадь КК	-	-0,49	-0,61	-	<b>-0,71</b>	-0,40	-	-0,64	-
ДК – площадь ядра КК	-	-0,43	-0,63	-	-	-	-0,54	-	-
МДА – площадь БК	<b>0,72</b>	-0,41	<b>-0,80</b>	-0,51	0,43	-	-0,54	-	-
МДА – площадь ядра БК	-	-	-	-	-	-0,54	-	0,41	-
$\alpha$ токоферол – число КК	<b>0,78</b>	-	<b>0,70</b>	-	-	0,51	0,60	-	-
$\alpha$ токоферол – площадь КК	0,45	<b>0,72</b>	-	-	0,40	0,65	<b>0,74</b>	0,66	-
<b>Внутрисистемные корреляционные связи</b>									
ТК – площадь БК	-0,56	-	-0,64	-	-	-	<b>-0,77</b>	-	-
ТК – площадь ядра БК	-	-0,47	<b>-0,80</b>	-0,62	-0,62	-	<b>-0,72</b>	-	-

Примечание: I – интактные животные; II – при общем охлаждении организма животных; III – при введении дигидрокверцетина и общем охлаждении организма; IV – при введении арабиногалактана и общем охлаждении организма.

Введение арабиногалактана при общем охлаждении организма животных характеризуется наличием меньшего числа и силы интеграционных связей между параметрами системы ПОЛ-АОЗ в периферической крови и клеточным составом эпителиального пласта. Это указывает на более низкий уровень влияния на регенерационную активность эпителиоцитов органов дыхания (табл. 4).

Следовательно, своевременная и правильно подобранная коррекция реакции ПОЛ может обуславливать снижение действия цитотоксических факторов в условиях общего охлаждения

[Эмирбеков Э.З. с соавт., 1998; Арутюнов С.Д. с соавт., 2001; Владимиров Ю.А. с соавт., 2009]. Основываясь на литературных данных об антиоксидантном действии природных адаптогенов, можно предположить, что их использование было бы эффективным у пациентов пожилого возраста с целью снижения активности ПОЛ и замедления темпа возрастной инволюции. Длительное воздействие антиоксидантами способно замедлить физиологическое старение, предотвращать появление повреждений в генетическом аппарате клеток продуктами ПОЛ [Хавинсон В.Х. с соавт., 2003; Афанасьев, С.А. с соавт., 2009; Чумакова А.С. с соавт., 2014; Rattan S.I., 2005]. Этот факт свидетельствует о геропротективном действии антиоксидантных препаратов.

### **Заключение**

Известно, что в ранние сроки после действия холодового фактора происходит существенное снижение скорости клеточного обновления, при этом процесс регенерации обеспечивается за счет пролиферативной активности стволовых клеток. Восполнение пула стволовых клеток и их регенерационной активности является весьма перспективным направлением в плане изучения регенераторного процесса, особенно при старении организма. Благодаря экспериментальной модели была изучена патогенетическая роль стволовых клеток в реализации адаптивной реакции организма при изменении температурных параметров окружающей среды и коррекции нарушений системы ПОЛ-АОЗ природными антиоксидантами – дигидрохверцетином и арабиногалактаном. Разработаны концептуальные схемы патогенетических эффектов влияния этих препаратов на морфофункциональное состояние эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и систему ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легких у животных разных возрастных групп при действии холода, которые представлены на рисунках 1, 2.

Подводя итог можно сказать, что исследование взаимосвязи морфофункциональных показателей и регенерационного потенциала эпителия слизистой оболочки органов дыхания, а также уровень ПОЛ-АОЗ периферической крови и ткани легких на фоне применения дигидрохверцетина, является важной и перспективной задачей при решении патофизиологической проблемы репаративной регенерации.

### **ВЫВОДЫ**

1. Действие общего охлаждения на организм приводит к перераспределению клеточного состава, снижению регенерационного потенциала в эпителии слизистой оболочки трахеи и терминальных бронхиол. При этом в составе реснитчатых клеток увеличивается число элементов с признаками апоптоза, возрастает количество бокаловидных и снижается число промежуточных клеток. Выявляются в эпителиальном пласте многочисленные мигрирующие

тучные клетки, возрастает уровень элиминации, снижается митотическая активность эпителиоцитов, на что указывает уменьшение площади и ядра базальных клеток в трахее и клеток Клара в терминальных бронхиолах, а также понижается активность реакции на щелочную фосфомоноэстеразу (морфологического маркера стволовых клеток). Подобные изменения в большей степени выражены в группе животных в возрасте 19-20 месяцев.

2. Введение дигидрокверцетина при общем охлаждении организма у животных в возрасте 6-7 месяцев позволяет сохранить типичный план строения большинства реснитчатых клеток, сопровождающееся снижением уровня экстррузии эпителиоцитов, миграции тучных клеток и увеличением количества промежуточных элементов. О повышении регенерационной активности эпителиоцитов свидетельствует рост площади и размера ядра базальных клеток, клеток Клара и увеличение активности щелочной фосфомоноэстеразы. У животных в возрасте 19-20 месяцев выявляется менее значимая аналогичная динамика всех показателей.

3. Особенностью морфологии эпителиального пласта слизистой оболочки трахеи у животных в возрасте 6-7 месяцев при введении арабиногалактана на фоне общего охлаждения является умеренный рост активности на щелочную фосфомоноэстеразу в мембранах малодифференцированных элементов, увеличение площади и размера ядра базальных клеток и клеток Клара. Снижается экстррузия эпителиоцитов и уровень миграции тучных клеток. У животных в возрасте 19-20 месяцев все показатели менее значимы.

4. Действие общего охлаждения на организм обусловлено выраженным дисбалансом в системе перекисное окисление липидов – антиоксидантной защиты в группе животных особенно в возрасте 19-20 месяцев, что проявлялось в увеличении содержания в периферической крови продуктов липопероксидации: гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, на фоне снижения уровня  $\alpha$ -токоферола и церулоплазмينا. В тканях легкого более значимо повышалось содержание гидроперекисей липидов и диеновых конъюгатов при снижении показателя  $\alpha$ -токоферола.

5. Введение дигидрокверцетина при общем охлаждении организма приводит к значительному антиоксидантному эффекту в периферической крови животных в возрасте 6-7 месяцев, что проявляется ростом  $\alpha$ -токоферола, церулоплазмينا и снижением показателей ПОЛ. У животных в возрасте 19-20 месяцев изменение уровня реакций ПОЛ и АОЗ были менее значимы. При применении арабиногалактана на фоне общего охлаждения значительных изменений показателей антиокислительной активности у животных в возрасте 19-20 месяцев в тканях легких не выявлено.

6. Интегративные взаимоотношения между системой ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легкого, а также показателями клеточного состава эпителия дыхательных путей при введении дигидрокверцетина и общем охлаждении организма характеризуются достоверным

возрастзависимым усложнением межсистемных и внутрисистемных связей, что указывает на выраженный антиоксидантный эффект препарата и стимуляцию регенерационной активности эпителиоцитов. Взаимосвязь системы ПОЛ-АОЗ периферической крови и тканей легких, а также морфометрических показателей эпителия слизистой оболочки дыхательных путей при введении арабиногалактана и общем охлаждении ведет к возрастзависимому уменьшению числа и силы межсистемных и внутрисистемных связей, что свидетельствует о более низком стабилизирующем эффекте препарата на окислительные и регенерационные процессы в эпителиоцитах слизистой оболочки трахеи.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Полученные экспериментальные данные могут быть использованы в учебном процессе медицинских вузов с целью расширения знаний о закономерностях и механизмах антиоксидантного действия природных препаратов, таких как дигидрохверцетин и арабиногалактан. Материалы исследования вошли в учебные программы и используются в лекционных курсах и на практических занятиях ряда кафедр: нормальной и патологической физиологии, гистологии и биологии, патологической анатомии и геронтологии. Предложенный комплекс исследований регенерационной активности эпителия слизистой оболочки дыхательных путей рекомендуется для внедрения в работу экспериментальных лабораторий с целью оценки влияния на организм различных факторов (внешнее воздействие, действие препаратов и т.д.) с учетом возраста экспериментальных животных. Внедрен метод, позволяющий определить локализацию и оценить регенерационную активность базальных клеток в эпителии слизистой оболочки дыхательных путей с помощью электронно-гистохимической реакции на щелочную фосфомоноэстеразу (маркера стволовых клеток). На основании разработанного патента № 2679422. Рос. Фед.: «Способ активации регенерационного потенциала эпителия трахеи старых крыс при общем охлаждении организма» обосновано применение дигидрохверцетина у лиц пожилого возраста.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ**

Наиболее эффективным направлением является своевременная и правильно подобранная коррекция реакций ПОЛ, что может приводить к снижению действия цитотоксических факторов в условиях общего охлаждения. Основываясь на полученных данных об антиоксидантном действии дальневосточных адаптогенов можно предположить, что их использование было бы эффективным у пациентов пожилого возраста с целью снижению интенсивности реакции ПОЛ и повышения АОЗ, что приведет к замедлению темпа возрастной инволюции. Отсутствие достоверных морфобиохимических критериев создают трудности для

оценки уровня регенерационного потенциала эпителия дыхательных путей у животных разных возрастных групп в условиях действия низких температур и коррекции этих нарушений.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **Публикации в изданиях рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ**

1. Целуйко, С.С. Идентификация и локализация стволовых клеток в органах дыхательной системы (обзор литературы) / С.С. Целуйко, В.С. Намаконова, Н.П. Красавина, С.Д. Чжоу, Ц. Ли // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2014. – Вып. 52. – С. 121 – 128.

2. Целуйко, С.С. Влияние природных антиоксидантов на регенерацию эпителия слизистой оболочки трахеи при общем охлаждении организма / С.С. Целуйко, М.М. Горбунов, В.С. Намаконова, Н.П. Красавина // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 1. – С.95 – 99.

3. Воздействие низких температур на эпителий дыхательных путей и реакции перекисного окисления липидов в легких у крыс различного возраста / В.С. Намаконова, Н.П. Красавина, С.С. Целуйко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2017. – Вып. 63. – С. 61 – 65.

4. Регенерационный потенциал эпителия воздухоносных путей легкого у молодых и старых крыс при общем охлаждении / В.С. Намаконова, Н.П. Красавина, С.С. Целуйко // Научно-теоретический журнал Морфология. – 2017. – № 3. – С. 90.

### **Статьи, опубликованные в научных журналах, книгах и сборниках**

1. Morphofunctional assessment of reclaiming potential of an epithelium of a mucosa in system of a respiratory organs / V.S. Namakonova, N.P. Krasavina // The 10<sup>th</sup> Russia and China pharmaceutical forum «Modern problems adaptation of the Asia-Pacific region». Amur medical journal. – 2013. – №2. – P. 92 – 93.

2. Регенерационный потенциал эпителия слизистой оболочки различных отделов воздухоносных путей / В.С. Намаконова, Н.П. Красавина // Материалы XIV-й региональной научно-практической конференции с межрегиональным и международным участием. – Благовещенск, 2013. – С. 11 – 12.

3. Airway epithelium and its regenerative potential on the background of low temperature / V.S. Namakonova, N.P. Krasavina, S.S. Tseluyko // The 11<sup>th</sup> Sino-Russia forum of biomedical and pharmaceutical science. – Harbin, China, 2014. – P. 181 – 182

4. Морфофункциональная характеристика стволовых клеток эпителия дыхательных путей в эксперименте / В.С. Намаконова // Материалы XV региональной научно-практической конференции «Молодежь XXI века: шаг в будущее». – Благовещенск, 2014. – С. 156 – 157.

5. Горбунов, М.М. Роль стволовых клеток в регенерации эпителия трахеи при общем охлаждении организма и на фоне применения природных антиоксидантов / М.М. Горбунов, С.С. Целуйко, В.С. Намаконова, Н.П. Красавина // Амурский медицинский журнал. – 2014. – № 1. – С. 71 – 74.

6. Митотическая активность клеток эпителия трахеи у крыс различных возрастных групп на фоне охлаждения / В.С. Намаконова // Материалы XVI региональной научно-практической конференции «Молодежь XXI века: шаг в будущее». – Благовещенск, 2015. – С. 74 – 75.

7. Tseluyko, S.S. The role of stem cells in regeneration of the epithelium of the trachea with an overall cooling of the organism against application of natural antioxidants / S.S. Tseluyko, M.M. Gorbunov, V.S. Namakonova, N.P. Krasavina // Амурский медицинский журнал. Материалы XII Российско-Китайского биомедицинского форума «Инновационные методы лечения в традиционной российской и китайской медицине». – 2015. – № 3. – С. 117 – 119.

8. Природные антиоксиданты и их эффективность в условиях действия низких температур на организм молодых и старых крыс / В.С. Намаконова, М.А. Штарберг, Н.П. Красавина, С.С. Целуйко // Амурский медицинский журнал. – 2016. – № 1. – С. 81 – 84.

9. Evaluating the effectiveness of the use of natural antioxidants in the general cooling of body in rats of different age groups / V.S. Namakonova, S.S. Tseluyko, N.P. Krasavina // Амурский медицинский журнал. Материалы XIII китайско-российского биомедицинского форума. – 2016. – № 3-4. – С. 92 – 94.

10. Efficiency of the use of digidroquercetin in general cooling of the organism of old rats / V.S. Namakonova // Амурский медицинский журнал. Материалы XIV Российско-китайского биомедицинского форума «Инновационные методы лечения в традиционной российской и китайской медицине». – 2017. – № 3. – С. 139 – 140.

11. Impact of low temperatures on the epitely of respiratory ways in rats of various age / V.S. Namakonova, N.P. Krasavina, S.S. Tseluyko // Амурский медицинский журнал. Материалы XIV Российско-китайского биомедицинского форума «Инновационные методы лечения в традиционной российской и китайской медицине». – 2017. – № 4. – С. 107 – 108.

12. Оценка эффективности дигидрокверцетина в условиях общего охлаждения организма старых крыс / В.С. Намаконова // Материалы XIII региональной научно-практической конференции «Молодежь XXI века: шаг в будущее». – Благовещенск, 2017. – С. 948 – 949.

13. The effect of natural antioxidants on the organism of old animals at the general cooling of the organism / V.S. Namakonova, N.P. Krasavina, S.S. Tseluyko // The 15<sup>th</sup> Sino-Russia forum of biomedical and pharmaceutical science. – Harbin, 2018. – P. 43 – 45.

**Патент:**

Патент 2679422. Рос. Фед.: Способ активации регенерационного потенциала эпителия трахеи старых крыс при общем охлаждении организма / С.С. Целуйко, Н.П. Красавина, В.С. Намаконова // заявитель и патентообладатель: ФГБОУ ВО Амурская ГМА (RU); опубл. 2019.

**СОКРАЩЕНИЯ И УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ**

АГ – арабиногалактан

АОЗ – антиоксидантная защита

БК – базальные клетки

ГПЛ – гидроперекиси липидов

ДК – диеновые конъюгаты

ДКВ – дигидрокверцетин

КК – клетки Клара

МДА – малоновый диальдегид

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СК – стволовые клетки

СРО – свободнорадикальное окисление

ТК – тучные клетки

ЦП – церулоплазмин

ЭЭК – экструзия эпителиальных клеток





Рис. 1. Схема патофизиологических изменений, возникающих при применении дигидрокверцетина и общем охлаждении на морфофункциональное состояние эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и систему ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легких у животных разных возрастных групп.



Рис. 2. Схема патофизиологических изменений, возникающих при применении арабиногалактана и общем охлаждении на морфофункциональное состояние эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и систему ПОЛ-АОЗ в периферической крови и тканях легких у животных разных возрастных групп.