

ФИЗИОЛОГИЯ
ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

УДК 577.17.02:612.392:612.821

ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА НА МЕТАБОЛИЗМ
И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ МЫШЕЙ С НОРМАЛЬНОЙ
И НАРУШЕННОЙ РЕЦЕПЦИЕЙ ЛЕПТИНА

© 2020 г. С. А. Апрятин*, В. А. Шипелин*, Н. В. Трусов*, К. В. Мжельская*, Н. В. Кирбаева*,
Х. С. Сото*, Н. А. Ригер*, И. В. Гмошинский*.*

*Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи,
Устьинский пр., 2/14, Москва, 109240 Россия

@E-mail: gmosh@ion.ru

Поступила в редакцию 22.08.2018 г.

После доработки 22.08.2019 г.

Принята к публикации 22.08.2019 г.

Изучено влияние потребления кверцетина (Q) на поведенческие реакции, интегральные и метаболические показатели у самцов мышей линий db/db, генетически склонных к развитию ожирения, и мышей C57Bl/6J, получающих рацион с избыточной энергетической ценностью. Определены сила хватки передних лап, состояние поисковой активности, тревожности и кратковременной памяти, интегральные и биохимические показатели, уровни лептина, грелина и IL-10. Выявлены различия между двумя экспериментальными моделями ожирения в ответе интегральных, биохимических показателей и поведенческих реакций мышей на потребление Q, которые объясняются нокаутом у db/db гена *Lepr*, кодирующего рецептор лептина, вследствие чего его нейротропные и регуляторные функции не могут у них адекватно реализоваться. Обнаружены эффекты Q, которые следует учитывать при обосновании доз и сроков применения этого нутрицевтика в клинической практике.

DOI: 10.31857/S0002332920040025

Поддержание постоянства массы тела (МТ) человека и млекопитающих в условиях качественно разнообразного питания осуществляется комплексом механизмов, среди которых ведущую роль играет нейрогуморальная регуляция пищевого поведения со стороны центральной нервной системы (ЦНС). Выделяют два контура такой регуляции, из которых первый, так называемый гомеостатический, опосредуется реакцией нейронов дугообразных ядер гипоталамуса на поступающие от периферических тканей гормональные сигналы, такие как адипокины – лептин и грелин (Hsu *et al.*, 2015; Deck *et al.*, 2017). Второй, так называемый гедонистический, контур обусловлен получением удовольствия от процесса питания. Он реализуется в высших отделах головного мозга, непосредственно связанных со вкусовым анализатором, и опосредован активностью каннабиноидных и опиоидных рецепторов, а также их эндогенных лигандов, воспроизводящих действие соответствующих психоактивных веществ (Wojanowska, Ciosek, 2016). Стойкие изменения в обоих регуляторных контурах могут привести к извращению влияния вкусной и высококалорийной пищи на уровень

аппетита и насыщения, а также к дисбалансу между энергетической ценностью рациона и энергозатратами, приводящему к развитию алиментарного ожирения и метаболического синдрома. Взаимодействие этих контуров сложное. Важную роль в нем может играть развитие системного воспаления, приводящего к снижению чувствительности клеток организма к инсулину и лептину (Ouchi *et al.*, 2011).

В качестве перспективных средств, позволяющих повлиять на центральные механизмы энергетического гомеостаза, осуществить коррекцию их нарушений, в настоящее время рассматриваются минорные биологически активные вещества (БАВ) пищи, принадлежащие к группе биофлавоноидов, в частности кверцетин (Q) – 3,3',4',5,7-пентагидроксифлавоноид. Согласно ряду экспериментальных данных, полученных с использованием *in vivo* моделей (Kobori *et al.*, 2011; Panchal *et al.*, 2012), и клинических наблюдений (Edwards *et al.*, 2007) потребление Q в дозах, характерных для его содержания в пищевых продуктах, может облегчать симптомы метаболического синдрома, вызванного потреблением избытка легкоусвояе-

мых углеводов. Предполагается, что действие Q на организм связано с эффектами активации транскрипционных факторов PPAR- γ , SREBP1 и AMPk (Castrejón-Tellez *et al.*, 2016). Вместе с тем возможная эффективность Q при коррекции центральных нарушений, приводящих к развитию ожирения, исследована недостаточно.

Один из эффективных способов проследить влияние БАВ на активность ЦНС – изучение поведенческих реакций лабораторных животных (нейромоторики, уровня локомоторной и поисковой активности, тревожности, краткосрочной и долговременной памяти). При этом желательно получить результаты с помощью экспериментальных моделей как минимум двух типов: у животных мутантных или нокаутных линий с генетически детерминированным ожирением, развивающимся при потреблении сбалансированного рациона, и у животных обычных линий, для рациона которых характерна избыточная энергетическая ценность (Wong *et al.*, 2016).

Цель работы – изучение влияния Q на поведенческие реакции, отдельные интегральные и метаболические показатели у самцов двух линий мышей: db/db с нокаутом гена, кодирующего рецептор лептина *Lepr*, склонных к спонтанному развитию ожирения, и мышей линии C57Bl/6J, получающих гиперкалорийный высокоуглеводно-высокожировой рацион (ВУВЖР).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на 24 самцах мышей (возраст 8–10 нед, средняя исходная МТ 40.2 ± 3.2 г) линии db/db, полученных из питомника ИЦиГ СО РАН (Россия), и 32 самцах мышей инбредной линии C57Bl/6J того же возраста (средняя исходная МТ 21.1 ± 0.2 г), полученных из питомника филиала “Столбовая” (Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России).

Животные были разделены на три группы (1–3) равной численности ($N = 8$) для db/db и четыре группы (4–7; $N = 8$) для C57Bl/6J. В течение 47 сут мыши 1-й и 4-й групп получали контрольный сбалансированный полусинтетический рацион для грызунов по AIN93M, 2-й и 3-й групп – такой же рацион с добавкой Q из расчета 25 и 100 мг/кг МТ соответственно, 5-й группы – высокожировой (30% жиров) рацион с 20% фруктозы вместо воды (ВУВЖР), 6-й и 7-й групп – ВУВЖР и добавку Q в дозах 25 и 100 мг/кг МТ соответственно. Рационы, воду и раствор фруктозы предоставляли животным в режиме неограниченного свободного доступа. Мышей содержали по 1 (C57Bl/6J) или

2 (db/db) особи в клетках из поликарбоната при 12/12-часовом режиме освещения и температуре воздуха $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Ежедневно фиксировали количество съеденного корма и выпитых жидкостей и рассчитывали удельное энергопотребление и дозу Q. МТ определяли еженедельно на электронных весах с точностью ± 0.1 г. Общее время кормления животных экспериментальными рационами составило 47 сут.

Оценку состояния мышечного тонуса мышей проводили с помощью определения силы хватки передних лап на 28-е сут эксперимента. Степень выраженности эмоциональной реакции страха и тревоги, поисковой активности, двигательную активность (подвижность), оценивали в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ) на 9-е (тест 1) и 43-и (тест 2) сут эксперимента. Показатели краткосрочной памяти животных изучали в тесте “условный рефлекс пассивного избегания” (УРПИ) на 37-е и 38-е сут (тесты 0 и 1 соответственно). Во всех случаях использовали лабораторное оборудование, средства видеоконтроля и программное обеспечение производства фирмы “Panlab Harvard Apparatus” (Испания). Методики экспериментов были детально описаны ранее (Апратин и др., 2018).

Работу с животными выполняли в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199 н от 01.04.2016 г. “Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики”. Дизайн эксперимента был одобрен Комитетом по этике ФИЦ питания и биотехнологии (протокол № 4 от 20.04.2017 г.).

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 47-е сут путем обескровливания из нижней полой вены под эфирной анестезией. Массу органов, забрюшинной и бурой жировой ткани определяли на лабораторных весах с точностью ± 0.01 г; относительную массу внутренних органов рассчитывали в процентах МТ. Кровь собирали в пробирки с антикоагулянтом 1.0%-ным раствором гепарина в 0.15 М NaCl (1 : 10 по объему), плазму отделяли центрифугированием, после чего исследовали биохимические показатели (содержание глюкозы, триглицеридов, холестерина и др.) на биохимическом анализаторе Copelab 20i (Финляндия) по стандартным методикам, а также содержание лептина, грелина и IL-10 на мультиплексном анализаторе Luminex 200 (Luminex Corporation, США) с использованием наборов Bio-Plex Mouse Diabetes Panel 8-Plex и Bio-Plex Pro Mouse Cytokine Grp I Panel 23-Plex (Bio-Rad Laboratories, Inc. USA).

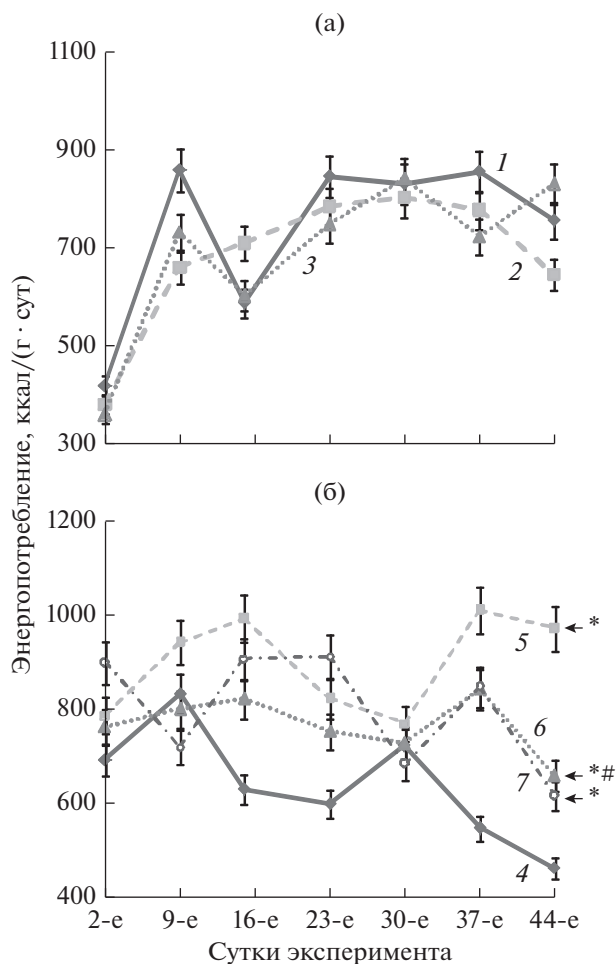


Рис. 1. Динамика энергопотребления мышами db/db (а) и C57Bl/6J (б). * – различие с группой 4 достоверно, # – различие с группой 5 достоверно, *t*-тест Стьюдента для попарно-связанных среднегрупповых значений. 1–7 группы мышей.

Статистическую обработку проводили с использованием критерия χ^2 для альтернативных показателей, одно- и многофакторного дисперсионного анализа для оценки наличия влияния различных факторов и силы этого влияния (η), двустороннего *t*-теста Стьюдента с поправкой Левина (Levene) на неравенство выборочных дисперсий, непараметрических критериев Вилкоксона и Манна–Уитни для парных сравнений опытных групп при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На протяжении периода кормления экспериментальными рационами отмечалась гибель трех из восьми мышей db/db во 2-й и пяти из восьми в 3-й группе, получавших Q в дозах 25 и 100 мг/кг МТ ($p < 0.05$ при сравнении групп 1 и 3). При

вскрытии павших животных было отмечено наличие острой циркуляторной дисфункции легких и миокарда. Все животные остальных опытных групп выжили, имели нормальный внешний вид и систематически прибавляли в МТ. Среднее энергопотребление, выраженное в ккал/(г МТ · сут), у мышей db/db имело тенденцию к нарастанию на протяжении эксперимента и достоверно не различалось между группами. Мыши C57Bl/6J 5-й группы, потреблявшие ВУВЖР, характеризовались достоверно ($p < 0.05$) повышенным удельным энергопотреблением по сравнению с контрольной группой 4 (рис. 1а, б). При этом добавление Q достоверно снижало этот показатель в группе 6 и на уровне тенденции в группе 7.

По окончании эксперимента мыши db/db группы 1 демонстрировали выраженные фенотипические признаки ожирения и имели достоверно большую МТ, массу печени и белой (забрюшинной) жировой ткани по сравнению с мышами C57Bl/6J, получавшими контрольный рацион (рис. 2). Это свидетельствует о спонтанном развитии ожирения у первой из этих линий животных. Введение Q в рацион мышей db/db не оказывало влияния на интегральные показатели, за исключением возрастания массы забрюшинного жира в группе 2.

У мышей C57Bl/6J группы 5, получавших ВУВЖД, МТ и масса жировой ткани достоверно не отличалась от контроля, а масса печени была даже снижена, что указывает на резистентность самцов этой линии к развитию алиментарного ожирения и совпадает с ранее полученными данными (Мжельская и др., 2018). Мыши C57Bl/6J, получавшие ВУВЖД и Q, характеризовались дальнейшим снижением массы печени, повышением массы белого жира (группа 6) и снижением запасов бурого жира (группа 7).

Для мышей db/db контрольной группы были характерны достоверно и значительно большие по сравнению с мышами C57Bl/6J, получавшими сбалансированный рацион, уровни циркулирующего лептина и отмечалась тенденция к снижению уровня грелина, в результате чего значение отношения лептин : грелин (L/Ghr) было повышено у них более чем на порядок (рис. 3). В сопоставимых условиях у мышей линии db/db был также достоверно повышен по сравнению с C57Bl/6J уровень IL-10.

Потребление Q не оказывало влияние на уровни лептина, грелина и IL-10 у мышей db/db. У мышей C57Bl/6J потребление ВУВЖР с Q приводило к возрастанию уровня лептина и IL-10 по сравнению с таковыми у мышей контрольной группы.

В условиях потребления контрольного рациона у мышей db/db отмечались достоверно повышенные уровни глюкозы, общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой и высокой плотности (ЛПНП и ЛПВП соответственно) и триглицеридов по сравнению с мышами C57Bl/6J (рис. 4). При этом у последних кормление ВУВЖР вызывало достоверное возрастание уровня глюкозы по сравнению с контрольной группой. У мышей db/db 1-й группы по сравнению с 4-й группой C57Bl/6J, получавшей контрольный рацион, было многократно и достоверно снижено отношение активностей аспарагиновой и аланиновой трансаминаз (АСТ/АЛТ) (коэффициент де Ритиса), рассматриваемое как индикатор интенсивности катаболизма (Рослый и др., 2002; Рослый, 2015). У мышей C57Bl/6J кормление ВУВЖР не приводило к изменению этого показателя. Под действием Q у мышей db/db достоверно снижался уровень глюкозы ($\eta = 43\%$, $F = 10.047$, $p < 0.01$), возрастало содержание ЛПНП ($\eta = 34\%$, $F = 7.128$, $p < 0.02$), отношение ЛПНП/ЛПВП ($\eta = 49\%$, $F = 13.498$, $p < 0.01$). Уровни ЛПВП и триглицеридов демонстрировали тенденцию к снижению ($\eta = 20.6\%$, $F = 3.641$, $p < 0.1$ и $\eta = 21.9\%$, $F = 3.918$, $p < 0.1$ соответственно). Потребление Q в составе ВУВЖР мышами C57Bl/6J не приводило к достоверному изменению вышеперечисленных биохимических показателей по сравнению с таковым у животных, получавших только ВУВЖР. Липолитическая активность плазмы крови достоверно снижалась под действием Q у мышей C57Bl/6, получавших ВУВЖР, тогда как аналогичное влияние Q на этот показатель у мышей db/db проявлялось только на уровне недостоверной тенденции.

Мышечный тонус (характеризуемый показателем удельной силы хватки передних лап животных) был достоверно снижен у мышей db/db группы 1 по сравнению с соответствующей группой 4 мышей C57Bl/6J при втором тесте (рис. 5). При этом у мышей C57Bl/6J, потреблявших ВУВЖР, сила сжатия нарастала с возрастом, что не отмечалось у мышей db/db контрольной группы. Потребление Q в обеих дозах вызывало у мышей db/db, но не у получавших ВУВЖР мышей C57Bl/6J достоверное снижение удельной силы сжатия.

Характеристика в тесте ПКЛ подвижности (локомоторной и поисковой активности) мышей db/db показала (рис. 6), что соответствующие индикаторы (общий путь, пройденный в лабиринте, число переходов между закрытыми (ЗР) и открытыми (ОР) рукавами) снижаются с возрастом животных. Потребление Q приводит к достоверному

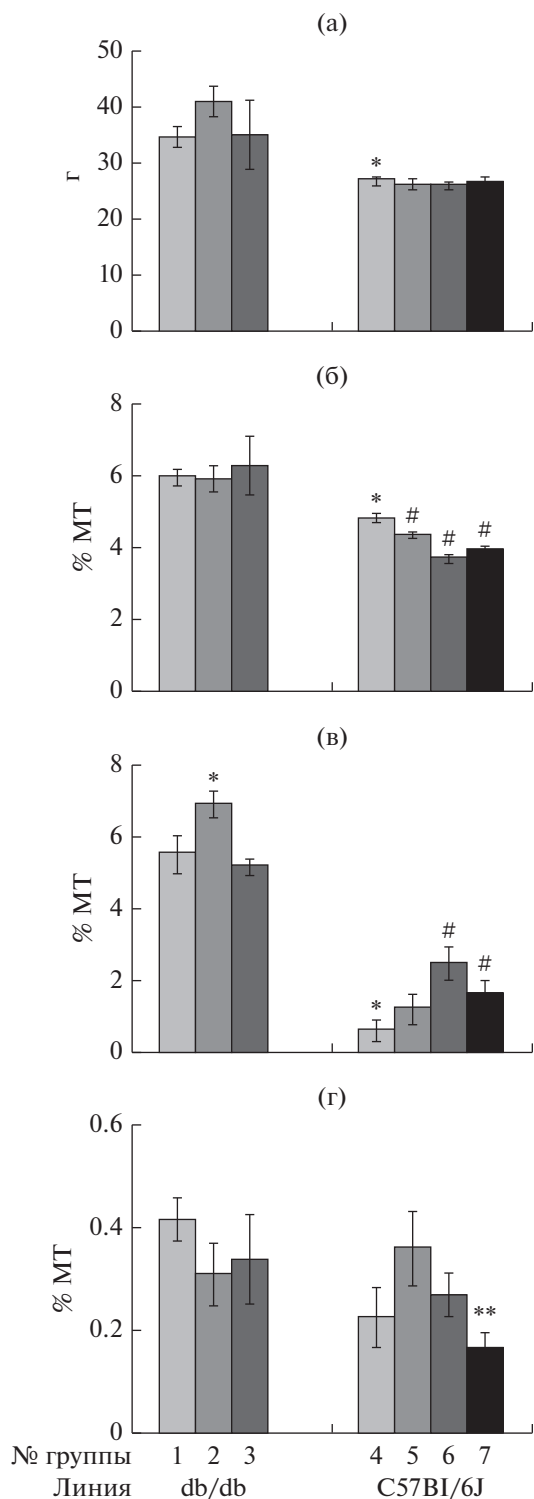


Рис. 2. Интегральные показатели мышей ($M \pm m$) по окончании эксперимента. а – масса тела; б – относительная масса печени; в – относительная масса забрюшинного (белого) жира; г – относительная масса бурого (межлопаточного) жира. Различия достоверно ($p < 0.05$, t -тест Стьюдента и/или критерий Манна–Уитни): * – с группой 1; # – с группой 4; ** – с группой 5. Численность групп 1–7: 8, 5, 3, 5, 5, 6, 7 животных соответственно; для рис. 2–5.

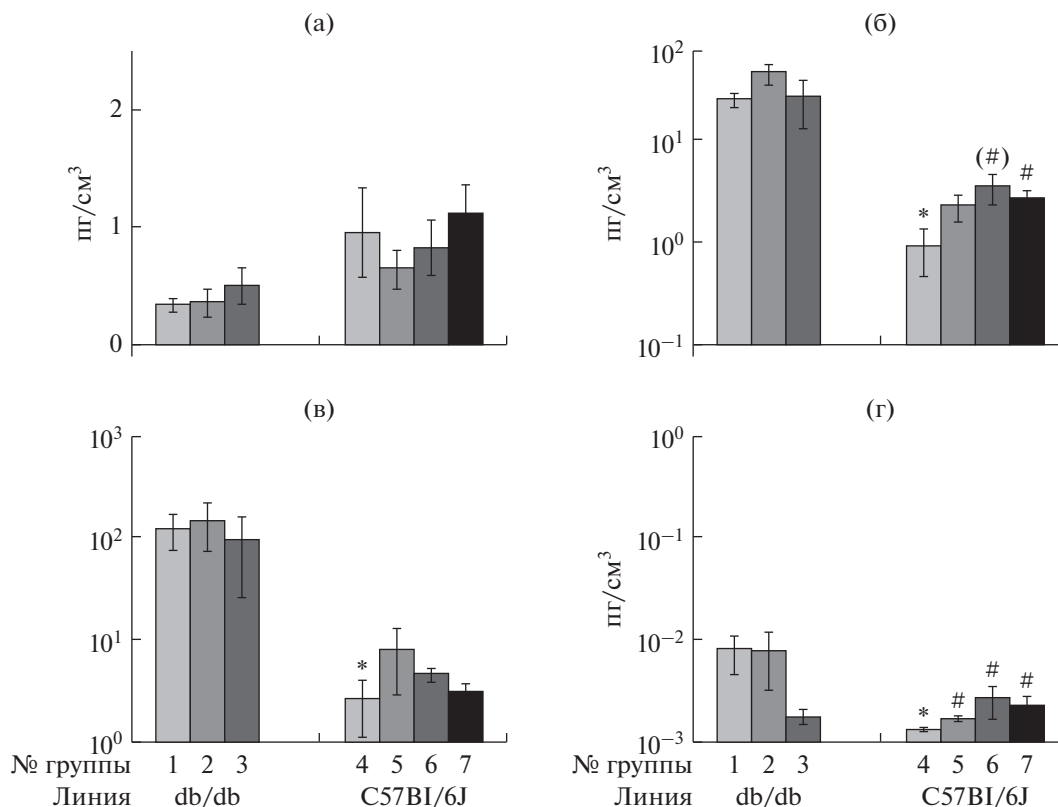


Рис. 3. Уровни ($M \pm m$) грелина (а) и лептина(б) и их отношение(в), а также уровень IL-10(г) в плазме крови мышей по окончании эксперимента. Различие достоверно ($p < 0.05$, t -тест Стьюдента и/или критерий Манна–Уитни): * – с группой 1; # – с группой 4; (#) – $p < 0.1$.

снижению такого ее показателя, как путь, пройденный в центральной зоне ($\eta = 5.7\%$, $F = 4.168$, $p < 0.05$), и общее число переходов ($\eta = 7.7\%$, $F = 5.105$, $p < 0.05$). Для общего пути, пройденного в лабиринте, и пути, пройденного в ОР, данное изменение проявлялось только на уровне тенденции. Из числа показателей тревожности достоверные изменения были выявлены для числа выходов животных в ОР, которое достоверно снижалось как под действием Q, так и при втором тесте по сравнению с первым, что свидетельствует о возрастании тревожности животных, причем влияние со стороны потребления Q было более выраженным ($\eta = 12\%$, $F = 8.151$, $p < 0.01$ по фактору Q и $\eta = 8.6\%$; $F = 5.832$, $p < 0.05$ по фактору “тест”).

Для мышей линии C57Bl/6J (рис. 7) было характерно в первую очередь снижение пройденного пути при втором тесте по сравнению с первым, причем на этот показатель влияло также, хотя и менее выражено, потребление ВУВЖР ($\eta = 5.6\%$, $F = 35.606$, $p < 0.001$ по фактору “тест” и $\eta = 1.4\%$, $F = 8.741$, $p < 0.05$ при взаимодействии факторов “рацион” и “тест”). При втором тестировании у этих животных достоверно снижалось также об-

щее число переходов между зонами ($\eta = 11.3\%$, $F = 59.221$; $p < 0.001$ по фактору “тест”). Следовательно, мыши этой линии становятся со временем менее подвижными, причем это изменение, по-видимому, маскируется потреблением ВУВЖР. Добавка Q не влияет на рассмотренные показатели подвижности у мышей C57Bl/6J, получающих ВУВЖР. Тревожность, определяемая по показателям времени, проведенного в ЗР, и отношения времен пребывания в ЗР и ОР (ЗР/ОР), достоверно возрастает во всех группах мышей C57Bl/6J при втором тесте ($\eta = 2.0\%$, $F = 16.288$, $p < 0.001$ и $\eta = 9.7\%$, $F = 12.529$, $p < 0.01$ по фактору “тест” соответственно), что согласуется с данными, полученными ранее (Мжельская и др., 2018). На показатели тревожности у этих животных Q, по-видимому, также не оказывает действия.

В тесте УРПИ (табл. 1) для мышей db/db было характерно наименьшее число заходов в темный отсек в тесте 0 (группы 1 и 3), что указывает на сниженную тревожность в этих группах. В дозе 25 мг/кг МТ Q способствовал увеличению числа заходов в темный отсек у мышей группы 2, что указывает на повышение тревожности и согласо-

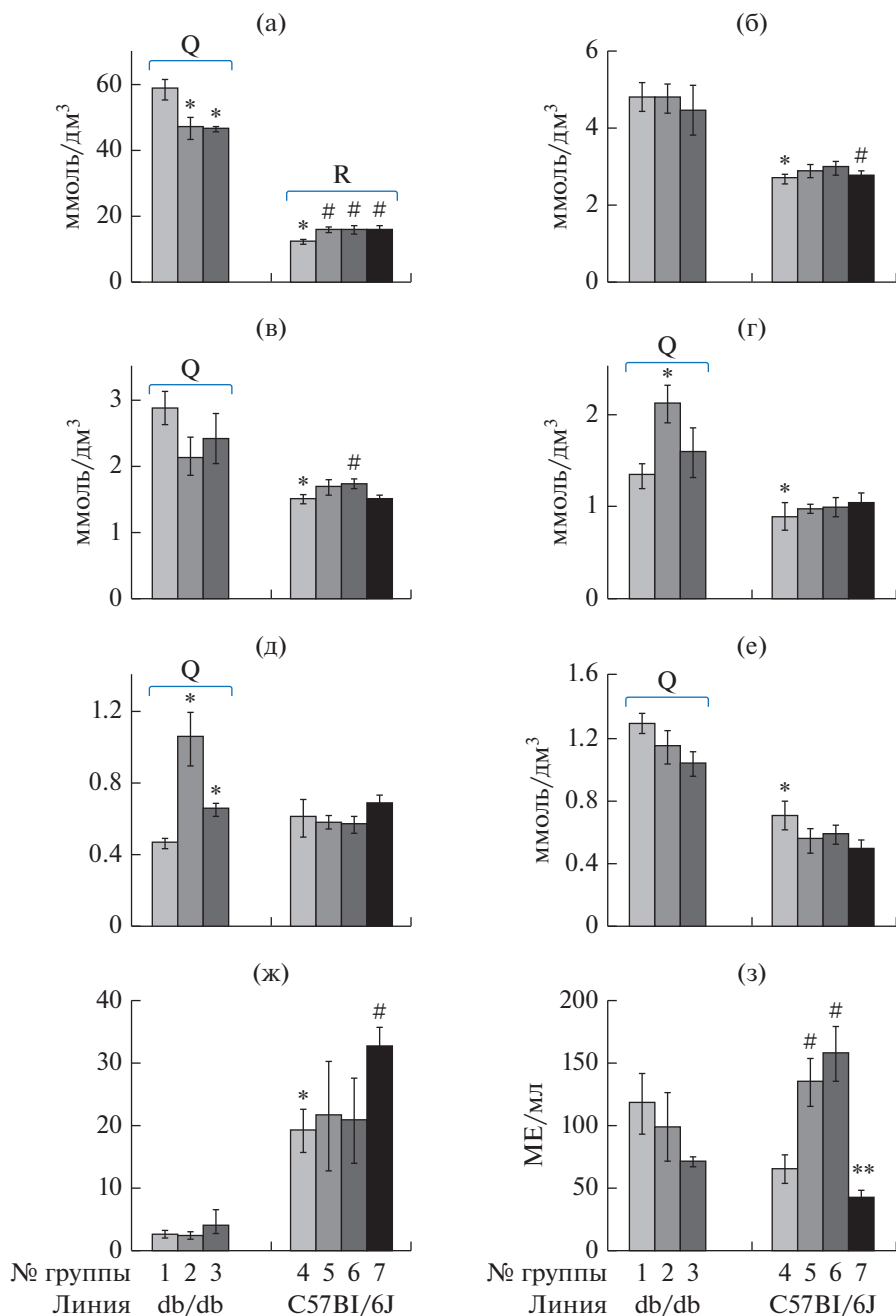


Рис. 4. Средние ($M \pm m$) биохимические показатели плазмы крови мышей при выведении из эксперимента. а – глюкоза; б – общий холестерин; в – холестерин липопротеинов высокой плотности (ЛПВП); г – холестерин липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (расчет); д – ЛПНП/ЛПВП; е – триглицериды; ж – отношение активностей аспарагиновой и аланиновой трансаминаз; з – активность липазы. Различия достоверно ($p < 0.05$, t -тест Стьюдента и/или критерий Манна–Уитни): * – с группой 1; # – с группой 4; ** – с группой 5. Горизонтальная скобка – распределение неоднородно (ANOVA $p < 0.05$) для охватываемого диапазона по фактору “рацион” (R), “кверцетин” (Q).

ется с данными ПКЛ для этой линии животных. При этом достоверных изменений в закреплении УРПИ в тесте 1 (характеризующем функцию кратковременной памяти) выявлено не было. У мышей C57Bl/6J, получающих ВУВЖР, Q не вызывал изменений показателей в тесте УРПИ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В проведенных исследованиях были получены данные о влиянии Q на показатели организма мышей на двух альтернативных моделях: у мышей db/db, потребляющих сбалансированный по энергетической ценности рацион, и у мышей

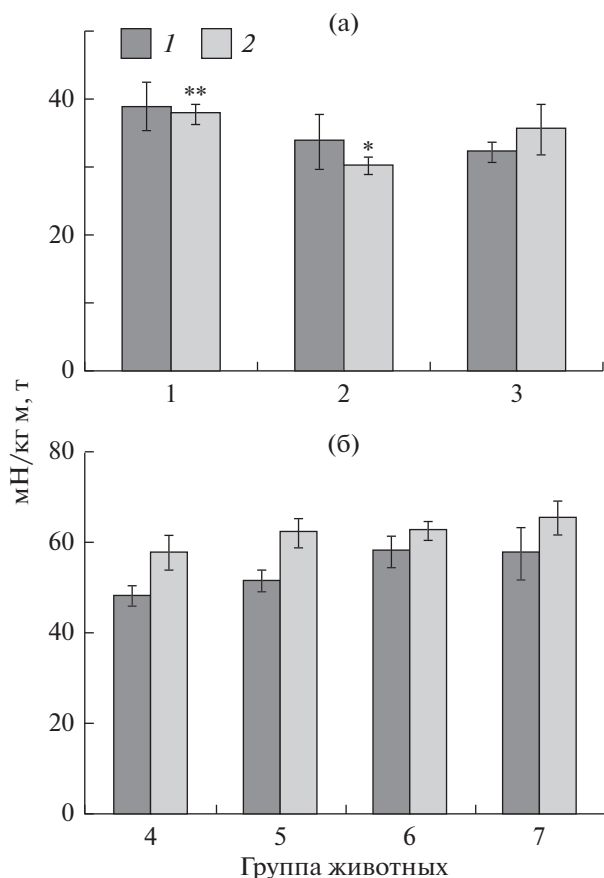


Рис. 5. Мышечный тонус (удельная сила хватки передних лап) ($M \pm m$) мышей. а – линии db/db; б – C57Bl/6J. Различия достоверно ($p < 0.05$, критерий Манна–Уитни): * – с контрольной группой; ** – с мышами C57Bl/6J. 1 и 2 – первый и второй тесты соответственно.

C57BL/6J, потребляющих ВУВЖР. Как показали результаты определения интегральных и биохимических показателей, мыши db/db отличались от получавших контрольный рацион мышей C57BL/6J избыточной массой тела, печени и бурого жира, повышенными уровнями лептина, IL-10, соотношением лептин/грелин, гипергликемией, гипертриглицеридемией и дислипидемией, а также сниженным мышечным тонусом. Этот результат подтверждает адекватность использования мышей db/db в качестве модели генетически детерминированного ожирения. Основная причина его развития – отсутствие у мышей линии db/db нормально функционирующего рецептора лептина, вследствие чего его нейротропные и регуляторные функции не могут адекватно реализоваться (Kobayashi *et al.*, 2000). Одновременно при этом отсутствует интернализация комплекса лептин–рецептор и резко замедляется клиренс леп-

тина из системной циркуляции, из-за чего его уровень многократно возрастает, и для него становится характерным проявление ряда аномальных иммуотропных свойств, обусловленных частичной гомологией третичной структуры макромолекулы лептина и ряда цитокинов и хемокинов (López-Jaramillo *et al.*, 2014; Pérez-Pérez *et al.*, 2017). По некоторым данным механизм действия лептина у мышей db/db может заключаться в его взаимодействии с ферментами семейства сиртуинов, в частности Sirt1 (Yamamoto *et al.*, 2007). Механизм взаимодействия белка Sirt1 и лептина до конца не расшифрован. Sirt1 вовлечен в регуляцию продолжительности жизни и снижает резистентность к лептину (Hosoi *et al.*, 2017). Известно также, что сиртуины участвуют в НАДФ/АТФ-зависимых процессах энергетического обмена, активируют процесс глюконеогенеза и подавляют гликолиз (Rodgers *et al.*, 2007; Horio *et al.*, 2011). Существенно также, что сиртуины, по-видимому, одни из основных мишеней системного действия полифенолов, в том числе Q (Zhao *et al.*, 2017).

У мышей C57Bl/6J, получавших ВУВЖР, была значительно повышена общая потребляемая энергетическая ценность рациона по сравнению с таковой у животных, находящихся на контрольном рационе. Этому соответствовали такие изменения в организме, как повышение массы белого жира, уровня гликемии, содержания лептина, IL-10 и соотношения лептин/грелин, липолитической активности. Содержание бурого жира у этих животных проявляло тенденцию к росту, что указывает на возможное увеличение пищевого термогенеза. В целом мыши C57Bl/6J, получавшие ВУВЖР, оказались сравнительно резистентными к развитию ожирения.

Воздействия Q на показатели, характеризующие развитие ожирения, существенно различались у двух использованных линий мышей. Так, если у мышей db/db Q практически не влиял на потребляемую энергетическую ценность рациона, то у C57Bl/6J, потреблявших ВУВЖР, Q в дозе 25 мг/кг МТ способствовал достоверному снижению потребляемой калорийности, что, возможно, свидетельствует о модуляции аппетита у этих животных. Уровень ЛПНП, отношение ЛПНП/ЛПВП и содержание общего холестерина повышались у мышей db/db, получавших добавку Q, тогда как у мышей C57Bl/6J, получавших ВУВЖР, подобного действия не наблюдалось. При этом следует иметь в виду, что у грызунов из-за сниженной по сравнению с приматами активности транспортера эфиров холестерина СЕТР наблюдается устойчивость к развитию атеросклероза.

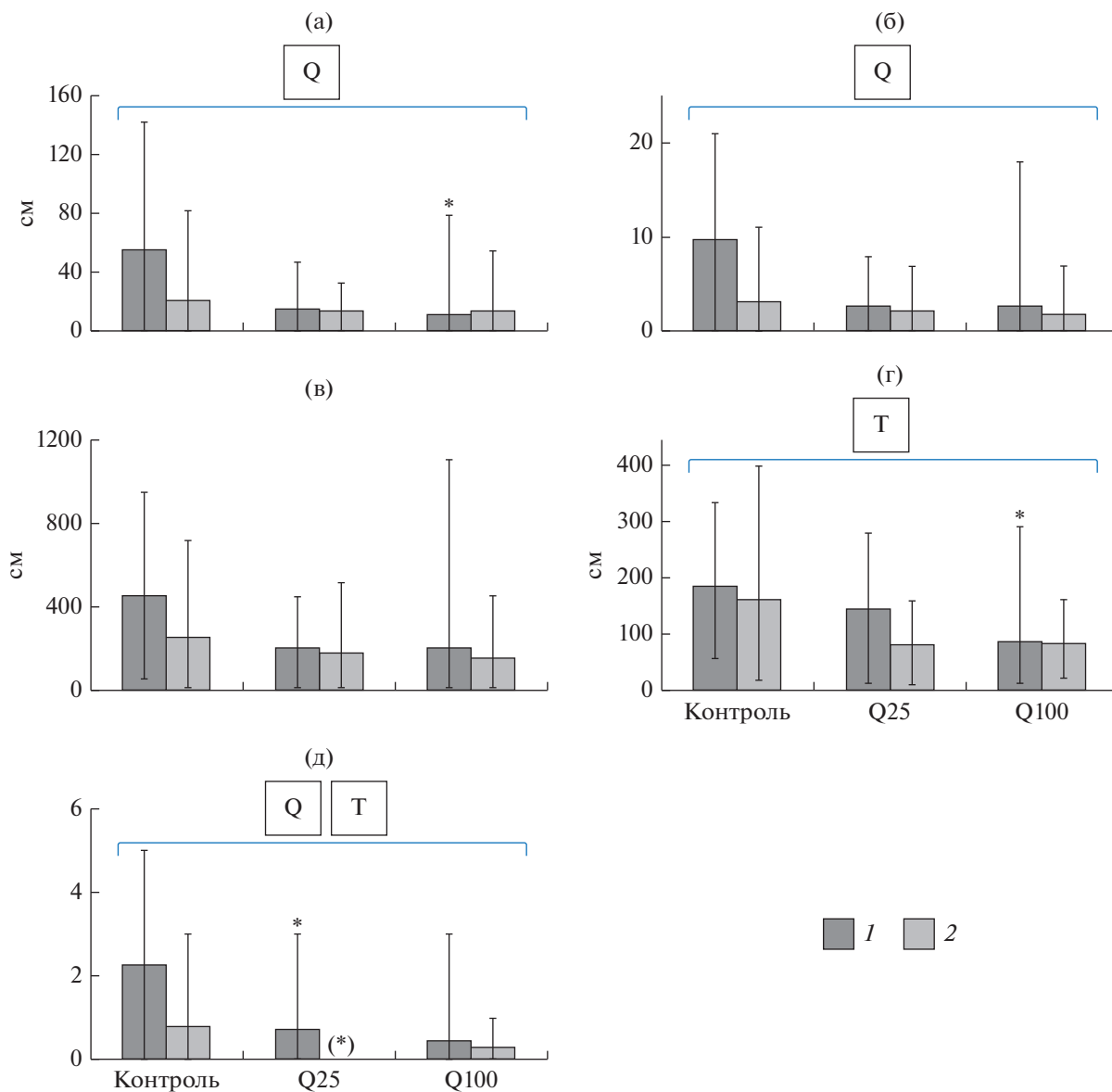


Рис. 6. Показатели (среднее, интервалы изменения) подвижности (поисковой и локомоторной активности) и тревожности в тесте ПКЛ у мышей db/db. а – путь, пройденный в центральной зоне; б – число переходов между зонами; в – полный путь, пройденный в лабиринте; г – путь, пройденный в открытых рукавах; д – число выходов в открытые рукава. * – различие с контрольной группой достоверно ($p < 0.05$, критерий Манна–Уитни). Горизонтальная скобка – распределение неоднородно (ANOVA, $p < 0.05$) для охватываемого диапазона по факторам “кверцетин” (Q), “номер теста” (Т). Численность групп 1–3: 8, 5, 4 животных при первом тесте; 8, 5, 3 животных при втором тесте соответственно.

за даже при значительном повышении показателей ЛПНП и ЛПНП/ЛПВП (Tran *et al.*, 2009). В этих условиях повышение уровня ЛПНП следует рассматривать как фактор, препятствующий накоплению холестерина и его эфиров в печени, аналогично тому, что наблюдалось ранее (Kobogi *et al.*, 2011). Для мышей C57Bl/6J, получавших ВУВЖР, было характерно резкое снижение липолипидической активности под действием Q в наи-

большей дозе; подобное изменение у db/db мышей отмечалось только на уровне тенденции.

Наконец, воздействие Q на две линии мышей различалось и по показателям мышечного тонуса и поведенческих реакций в тестах ПКЛ и УРПИ. Q достоверно снижал мышечный тонус при втором тесте, увеличивал степень тревожности и снижал подвижность только у мышей db/db, но не у C57Bl/6J, получавших ВУВЖР. Отмеченные

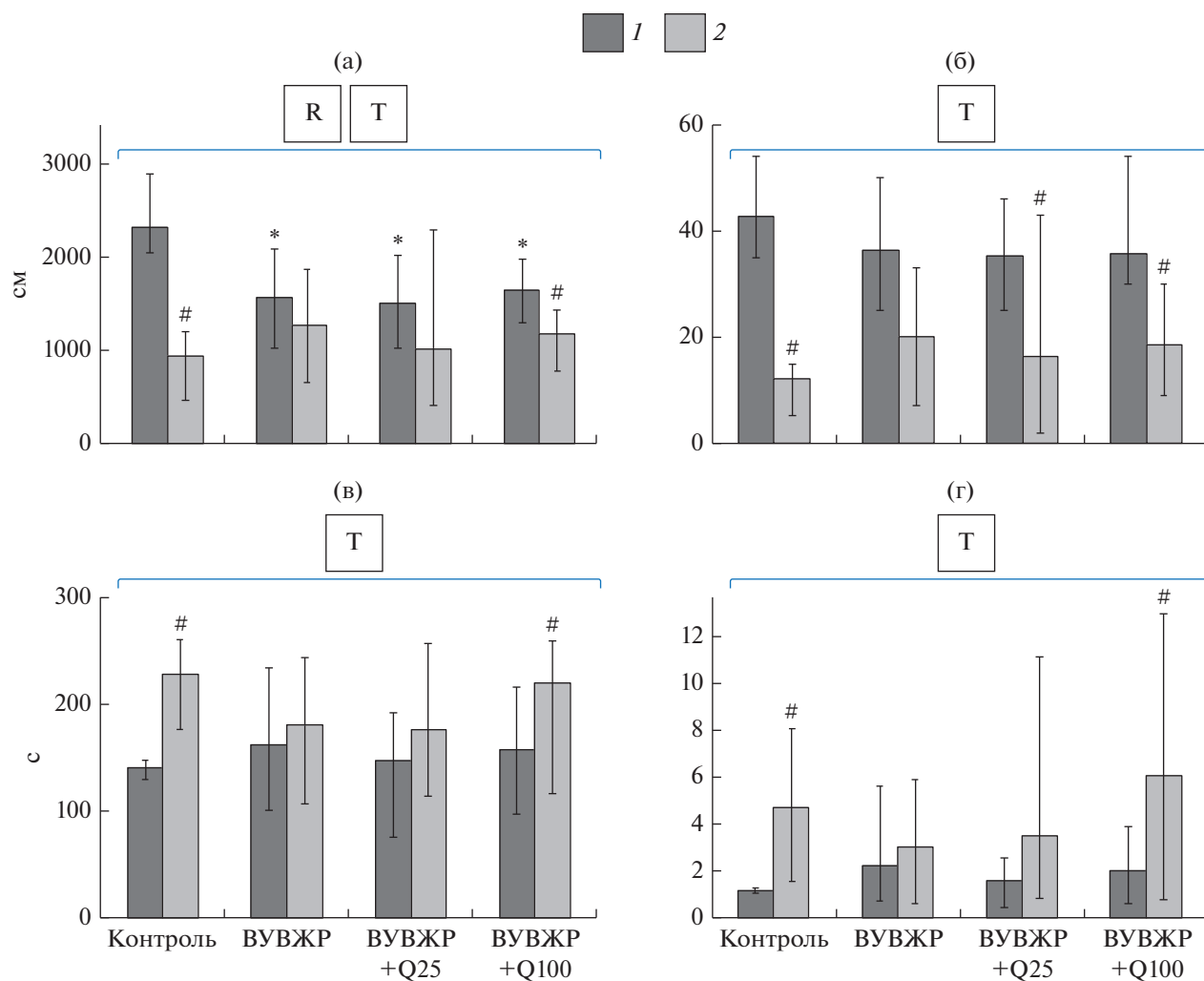


Рис. 7. Показатели (среднее, интервалы изменения) подвижности (поисковой и локомоторной активности) и тревожности в тесте ПКЛ у мышей C57Bl/6J. а – полный путь, пройденный в лабиринте; б – число переходов между зонами; в – время, проведенное в закрытых рукавах; г – отношение времен, проведенных в закрытых и открытых рукавах. * – различие достоверно ($p < 0.05$, критерий Манна–Уитни) с группой 4. # – различие между первым и вторым тестами достоверно ($p < 0.05$, критерий Вилкоксона для попарно-связанных значений). Горизонтальная скобка – распределение неоднородно (ANOVA, $p < 0.05$) для охватываемого диапазона по факторам “рацион” (R), “номер теста” (T). Численность групп 4–7: 5, 5, 6 и 7 животных соответственно.

различия могут быть связаны с зависимостью поведенческих реакций от уровня лептиновой рецепции. Согласно некоторым данным лептин в зависимости от экспрессии Ob-Rb-рецепторов в различных регионах головного мозга, включая ядра гипоталамуса, среднего мозга и ствола мозга, воздействует на мезолимбическую дофаминовую систему через активность мембранного транспортера дофамина (DAT), осуществляющего выведение дофамина из синапсов нейронов (Efimova *et al.*, 2016; Cinque *et al.*, 2018). Следовательно, лептин может участвовать не только в энергетическом балансе за счет регуляции орексии, но и в локомоторной

активности. И наоборот, дофаминэргические механизмы за счет взаимодействия с лептиновой системой могут быть вовлечены в регуляцию аппетита (Perry *et al.*, 2010).

В целом следует констатировать, что Q у мышей db/db оказывал неблагоприятное действие, вызывая гибель части животных и снижая уровень мышечного тонуса. Можно предположить, что у нокаутных по гену *Lepr* мышей db/db в состоянии избыточного накопления жировой ткани и системного воспаления, обусловленных лептиновой резистентностью, происходит активизация ферментных систем (таких, как некоторые изо-

Таблица 1. Показатели теста условного рефлекса пассивного избегания у мышей опытных групп

Группа	Линия	Рацион	L, с ($M \pm m$)*	N, %	
				первый тест**	второй тест**
1	db/db	KP	121 ± 24 ²	4/8 (50) ²	0/4 (0)
2	db/db	KP+Q25	180 ± 0	0/7 (0) ^{1, 3}	–
3	db/db	KP+Q100	160 ± 2	4/5 (80) ²	1/1 (100)
4	C57Bl/6	KP	114 ± 27 ²	1/5 (20)	2/4 (50)
5	C57Bl/6	ВУВЖР	99 ± 29	1/5 (20)	2/4 (50)
6	C57Bl/6	ВУВЖР+Q25	66 ± 22	0/6 (0)	2/6 (33)
7	C57Bl/6	ВУВЖР+Q100	65 ± 21	0/7 (0)	5/7 (71)

Примечание. L – латенция 1-го входа в темную камеру; с. N – число мышей, не зашедших в темную камеру; KP – контрольный (сбалансированный) рацион; ВУВЖР – высокожировой, высокоуглеводный рацион; Q – кверцетин, доза, мг/кг. Надстрочные индексы – группы, различия с которыми достоверны, $p < 0.05$. * – U-тест Манна–Уитни. ** – критерий χ^2 . “–” – отсутствие данных.

формы СУРЗА), способных вызывать образование аномальных токсичных метаболитов Q по аналогии с экспериментами, проведенными на крысах (Chen *et al.*, 2003; Кравченко и др., 2012). Однако для подтверждения этой гипотезы требуются дополнительные исследования, поскольку данные о влиянии ожирения на активность ферментов системы метаболизма ксенобиотиков неоднозначны и зависят от вида, линии животных и экспериментальной модели (Tomankova *et al.*, 2017).

Таким образом, целый ряд эффектов Q, включая его влияние на потребление пищи, содержание холестерина и его фракций плазмы крови, липолипидическую активность, мышечный тонус, показатели подвижности и тревожности и активности, проявляется существенно по-разному у мышей, генетически склонных к развитию ожирения, и у нормальных животных, получающих гиперкалорийный рацион. Этот результат согласуется с известной неоднозначностью данных о клинической эффективности Q в диетотерапии ожирения и метаболического синдрома, зависящей, по-видимому, от генотипа больных (Edwards *et al.*, 2007; Egert *et al.*, 2010). Данное обстоятельство следует учитывать при обосновании доз и сроков применения этого БАВ в клинической практике.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 17-16-01043 “Поиск эффекторных звеньев метаболиз-

ма, регулируемых алиментарными факторами при ожирении, для разработки инновационных специализированных пищевых продуктов”).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Апратин С.А., Шипелин В.А., Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Гмошинский И.В., Никитюк Д.Б. Межвидовые различия поведенческих реакций и нейромоторики лабораторных грызунов, получающих рационы с легкоусвояемыми углеводами // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т. 165. № 1. С. 9–14.
- Кравченко Л.В., Аксенов И.В., Трусов Н.В., Гусева Г.В., Авреньева Л.И. Влияние количества жира в рационе на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков и антиоксидантной защиты у крыс // Вопр. питания. 2012. Т. 81. № 1. С. 24–29.
- Мжельская К.В., Шипелин В.А., Апратин С.А., Сото С.Х., Шумакова А.А., Евстратова В.С., Кирбаева Н.В., Трусов Н.В., Гмошинский И.В. Влияние рациона с избытком жиров и углеводов на нейромоторную функцию, когнитивные, интегральные и биохимические показатели крыс и мышей различных линий // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2018. Т. 104. № 4. С. 452–465.
- Росль И.М. Биохимические показатели в медицине и биологии. М.: Мед. информ. агентство, 2015. 616 с.
- Росль И.М., Абрамов С.В., Покровский В.И. Ферменты – адаптивный механизм или маркер цитолиза? // Вестн. РАМН. 2002. Т. 8. № 1. С. 3–9.
- Bojanowska E., Ciosek J. Can we selectively reduce appetite for energy-dense foods? An overview of pharmacologi-

- cal strategies for modification of food preference behavior // *Curr. Neuropharmacol.* 2016. V. 14. № 22. P. 118–142. DOI 9103147
<https://doi.org/10.2174/1570159X1466615110>
- Castrejón-Tellez V., Rodríguez-Pérez J.M., Pérez-Torres I., Pérez-Hernández N., Cruz-Lagunas A., Guarnier-Lans V., Rubio-Ruiz M.E.* The effect of resveratrol and quercetin treatment on PPAR mediated uncoupling protein (UCP-) 1, 2, and 3 expression in visceral white adipose tissue from metabolic syndrome rats // *Int. J. Mol. Sci.* 2016. V. 17. № 7. P. 1069.
<https://doi.org/10.3390/ijms17071069>
- Chen H.-W., Tsai C.-W., Yang J.-J., Liu C.-T.* The combined effects of garlic oil and fish oil on the hepatic antioxidant and drug-metabolizing enzymes of rats // *Br. J. Nutr.* 2003. V. 89. № 2. P. 189–200.
<https://doi.org/10.1079/BJN2002766>
- Cinque S., Zoratto F., Poggi A., Leo D., Cerniglia L., Cimino S., Tambelli R., Alleva E., Gainetdinov R.R., Laviola G., Adriani W.* Behavioral phenotyping of dopamine transporter knockout rats: compulsive traits, motor stereotypes, and anhedonia // *Front Psychiatry.* 2018. V. 9. № 43. P. 1–13.
- Deck C.A., Honeycutt J.L., Cheung E., Reynolds H.M., Borski R.J.* Assessing the functional role of leptin in energy homeostasis and the stress response in vertebrates // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2017. V. 8. P. 63.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00063>
- Edwards R.L., Lyon T., Litwin S.E., Rabovsky A., Symons J.D., Jalili T.* Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects // *J. Nutr.* 2007. V. 137. P. 2405–2411.
<https://doi.org/10.1093/jn/137.11.2405>
- Egert S., Boesch-Saadatmandi C., Wolfram S., Rimbach G., Müller M.J.* Serum lipid and blood pressure responses to quercetin vary in overweight patients by apolipoprotein E genotype // *J. Nutr.* 2010. V. 140. P. 278–284.
- Efimova E.V., Gainetdinov R.R., Budygin E.A., Sotnikova T.D.* Dopamine transporter mutant animals: a translational perspective // *J. Neurogenet.* 2016. V. 30. № 1. P. 5–15.
- Horio Y., Hayashi T., Kuno A., Kunitomo R.* Cellular and molecular effects of sirtuins in health and disease // *Clin. Sci. (Lond.).* 2011. V. 121. № 5. P. 191–203.
<https://doi.org/10.1042/CS20100587>
- Hosoi T., Maffei M.* Editorial: Leptin resistance in metabolic disorders: possible mechanisms and treatments // *Front Endocrinol. (Lausanne).* 2017. V. 8. P. 300.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00300>
- Hsu T.M., Hahn J.D., Konanur V.R., Noble E.E., Suarez A.N., Thai J., Nakamoto E.M., Kanoski S.E.* Hippocampus ghrelin signaling mediates appetite through lateral hypothalamic orexin pathways // *Elife.* 2015. V. 4. P. e11190.
<https://doi.org/10.7554/eLife.11190>
- Kobayashi K., Forte T.M., Taniguchi S., Ishida B.Y., Oka K., Chan L.* The db/db mouse, a model for diabetic dyslipidemia: molecular characterization and effects of Western diet feeding // *Metabolism.* 2000. V. 49. № 1. P. 22–31.
- Kobori M., Masumoto S., Akimoto Y., Oike H.* Chronic dietary intake of quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a Western-style diet in C57/BL6J mice // *Mol. Nutr. Food Res.* 2011. V. 55. P. 530–540.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.201000392>
- López-Jaramillo P., Gómez-Arbeláez D., López-López J., López-López C., Martínez-Ortega J., Gómez-Rodríguez A., Triana-Cubillos S.* Leptin/adiponectin ratio in metabolic syndrome and diabetes // *Horm. Mol. Biol. Clin. Invest.* 2014. V. 18. № 1. P. 37–45.
<https://doi.org/10.1515/hmbci-2013-0053>
- Ouchi N., Parker J.L., Lugus J.J., Walsh K.* Adipokines in inflammation and metabolic disease // *Nat. Rev. Immunol.* 2011. V. 11. P. 85–97.
<https://doi.org/10.1038/nri2921>
- Panchal S.K., Poudyal H., Brown L.* Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats // *J. Nutr.* 2012. V. 142. № 6. P. 1026–1032.
<https://doi.org/10.3945/jn.111.157263>
- Pérez-Pérez A., Vilariño-García T., Fernández-Riejos P., Martín-González J., Segura-Egea J.J., Sánchez-Margalef V.* Role of leptin as a link between metabolism and the immune system // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2017. V. 35. P. 71–84. DOI: 2017.03.001.
<https://doi.org/10.1016/j.cytogfr>
- Perry M.L., Leinninger G.M., Chen R., Luderman K.D., Yang H., Gnegy M.E., Myers M.G., Jr., Kennedy R.T.* Leptin promotes dopamine transporter and tyrosine hydroxylase activity in the nucleus accumbens of Sprague-Dawley rats // *J. Neurochem.* 2010. V. 114. № 3. P. 666–674.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06757.x>
- Rodgers J.T., Puigserver P.* Fasting-dependent glucose and lipid metabolic response through hepatic sirtuin 1 // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. № 31. P. 12861–12866.
<https://doi.org/10.1042/CS20100587>
- Tomankova V., Anzenbacher P., Anzenbacherova E.* Effects of obesity on liver cytochromes P450 in various animal models // *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc Czech. Repub.* 2017. V. 161. № 2. P. 144–151.
<https://doi.org/10.5507/bp.2017.026>
- Tran L.T., Yuen V.G., McNeill J.H.* The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension // *Mol. Cell. Biochem.* 2009. V. 332. P. 145–159.
<https://doi.org/10.1007/s11010-009-0184-4>
- Wong S.K., Chin K.-Y., Suhaimi F.H., Fairus A., Ima-Nirwana S.* Animal models of metabolic syndrome: a review // *Nutr. Metab.* 2016. V. 13. P. 65.
- Yamamoto H., Schoonjans K., Auwerx J.* Sirtuin functions in health and disease // *Mol. Endocrinol.* 2007. V. 21. № 8. P. 1745–1755.
<https://doi.org/10.1210/me.2007-0079>
- Zhao Y., Chen B., Shen J., Wan L., Zhu Y., Yi T., Xiao Z.* The beneficial effects of quercetin, curcumin, and resveratrol in obesity // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017. V. 2017. P. 1459497.
<https://doi.org/10.1155/2017/1459497>

Influence of Quercetin on the Metabolism and Behavioral Responses of Mice with Normal and Impaired Leptin Reception

**S. A. Apryatin¹, V. A. Shipelin¹, N. V. Trusov¹, K. V. Mzhel'skaya¹, N. V. Kirbaeva¹, J. S. Soto¹,
N. A. Riger¹, and I. V. Gmoshinski^{1, #}**

¹*Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Centre for Nutrition, Biotechnology and Food Safety",
Ust'inskiy proyezd 2/14, Moscow, 109240 Russia*

[#]*e-mail: gmosh@ion.ru*

The effects were studied of quercetin (Q) consumption on behavioral responses, muscle tone, integral and metabolic parameters in male db/db mice genetically prone to the development of obesity, and C57Bl/6J mice receiving a diet with excess energy value. The db/db mice received a balanced diet with the addition of Q at doses of 0; 25 and 100 mg/kg body weight (mt); C57Bl/6J – control ration or diet with high content of fat and fructose and the same diet with Q supplements for 47 days. The grip force on forepaws, the state of search activity, anxiety and short-term memory, integral and biochemical indicators, leptin, ghrelin and IL-10 levels were evaluated. The differences were revealed between the two experimental models of obesity in the response of integral, biochemical parameters and behavioral responses of mice to Q consumption, which are explained by knockout of the *Lepr* gene in db/db mice encoding the leptin receptor. As a result the neurotropic and regulatory functions of leptin cannot be adequately implemented in these animals. The detected effects of Q should be considered when justifying the dose and timing of this nutraceutical in clinical practice.