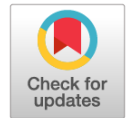


Оригинальное исследование

DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen691226>

EDN: JDRUXB



# Антигенотоксическая активность апигенина, нарингенина и гесперетина *in vivo*: тканеспецифичность эффектов

А.К. Жанатаев, Е.А. Анисина, А.В. Кулакова, А.Д. Дурнев

Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий, Москва, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Обоснование.** Экспериментальные сведения о тканеспецифичности и спектре антигенотоксической активности позволяют более адресно определить области практического применения антигенотоксикантов.

**Цель исследования.** Оценить тканеспецифичность антигенотоксической активности природных флавоноидов апигенина, нарингенина и гесперетина по отношению к повреждающим ДНК эффектам темозоломида и цитогенетическим эффектам генотоксикантов с различными механизмами действия.

**Методы.** Генотоксиканты темозоломид (50 мг/кг), циклофосфамид (20 мг/кг), метилметансульфонат (80 мг/кг) и диоксидин (250 мг/кг) вводили мышам внутривенно. Апигенин в дозах 5, 25 и 50 мг/кг, нарингенин и гесперетин в дозах 25, 50 и 100 мг/кг вводили трехкратно перорально перед инъекцией генотоксикантов. В отдельном эксперименте апигенин вводили через 1 ч после инъекции темозоломида. Исследование проводили с использованием метода ДНК-комет в клетках костного мозга, печени, почек, головного мозга и прямой кишки и методом учета хромосомных аберраций в клетках костного мозга.

**Результаты.** Апигенин снижал индуцируемую темозоломидом поврежденность ДНК в костном мозге (52–66%), печени (31–65%), почках (50%) и прямой кишке (100%), но не в головном мозге. Во всех использованных дозах апигенин уменьшал уровень атипичных ДНК-комет в почках. Нарингенин проявил антигенотоксическое действие, снижая поврежденность ДНК в костном мозге (48–62%), головном мозге (26–44%), прямой кишке (49–54%), но не в печени и почках. Антигенотоксичность гесперетина наблюдалась в костном мозге (23%), почках (29–33%), головном мозге (23–42%) и прямой кишке (32–47%). В цитогенетическом исследовании апигенин в зависимости от дозы редуцировал эффект темозоломида на 49–73%, нарингенин на 49–75% и гесперетин на 39–55%. В режиме постобработки апигенин (в дозе 5–50 мг/кг) редуцировал эффекты темозоломида на 47–51%. Апигенин в дозах 5 и 25 мг/кг значительно снижал цитогенетические эффекты диоксидина, а в дозе 25 мг/кг — циклофосфамида и метилметансульфоната. Нарингенин (50 и 100 мг/кг) редуцировал эффект циклофосфамида (43–71%), но не диоксидина.

**Заключение.** Апигенин, нарингенин и гесперетин обладают тканеспецифичной антигенотоксической активностью по отношению к эффектам темозоломида. Для апигенина и нарингенина установлена способность снижать цитогенетические эффекты генотоксикантов с различными механизмами повреждающего действия. Полученные данные определяют перспективность разработки исследованных флавоноидов в качестве средств защиты генома, в том числе таргетного действия.

**Ключевые слова:** апигенин; нарингенин; гесперетин; ДНК-кометы; хромосомные аберрации; темозоломид; циклофосфамид; метилметансульфонат; диоксидин; мыши.

## Как цитировать

Жанатаев А.К., Анисина Е.А., Кулакова А.В., Дурнев А.Д. Антигенотоксическая активность апигенина, нарингенина и гесперетина *in vivo*: тканеспецифичность эффектов // Экологическая генетика. 2025. Т. 23. № 4. С. 351–360. DOI: 10.17816/ecogen691226 EDN: JDRUXB

Original study article

DOI: <https://doi.org/10.17816/ecogen691226>

EDN: JDRUXB

# *In vivo* Antigenotoxicity of Apigenin, Naringenin, and Hesperetin: Tissue-Specific Effects

Aliy K. Zhanataev, Elena A. Anisina, Alla V. Kulakova, Andrey D. Durnev

Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russia

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Experimental data on tissue-specific effects and antigenotoxic potential facilitate more targeted practical applications of antigenotoxicants.

**AIM:** This work aimed to assess the tissue-specific antigenotoxic activity of the natural flavonoids apigenin, naringenin, and hesperetin against the DNA-damaging effects of temozolomide and the cytogenetic effects of genotoxicants with various mechanisms of action.

**METHODS:** The genotoxicants (temozolomide 50 mg/kg, cyclophosphamide 20 mg/kg, methyl methanesulfonate 80 mg/kg, and dioxydin 250 mg/kg) were administered intraperitoneally to mice. Before genotoxicant injections, three oral doses of apigenin (5, 25, and 50 mg/kg) and naringenin and hesperetin (25, 50, and 100 mg/kg) were given. In a separate experiment, apigenin was administered one hour after temozolomide injection. The study used a comet assay in bone marrow, liver, kidney, brain, and rectum cells, as well as chromosome aberration analysis in bone marrow cells.

**RESULTS:** Apigenin decreased temozolomide-induced DNA damage in the bone marrow (52%–66%), liver (31%–65%), kidneys (50%), and rectum (100%), but not in the brain. All apigenin doses reduced kidney levels of atypical DNA comets. Naringenin demonstrated antigenotoxic activity by reducing DNA damage in the bone marrow (48%–62%), brain (26%–44%), and rectum (49%–54%), but not in the liver or kidneys. Hesperetin showed antigenotoxic effects in the bone marrow (23%), kidneys (29%–33%), brain (23%–42%), and rectum (32%–47%). In a cytogenetic assay, apigenin, naringenin, and hesperetin dose-dependently reduced the effects of temozolomide by 49%–73%, 49%–75%, and 39%–55%, respectively. In the post-treatment mode, apigenin 5–50 mg/kg reduced the effects of temozolomide by 47%–51%. Apigenin 5 mg/kg and 25 mg/kg markedly reduced the cytogenetic effects of dioxydin, while apigenin 25 mg/kg decreased those of cyclophosphamide and methyl methanesulfonate. Naringenin 50 mg/kg and 100 mg/kg reduced the effect of cyclophosphamide (43%–71%), but not dioxydin.

**CONCLUSION:** Apigenin, naringenin, and hesperetin show tissue-specific antigenotoxic activity against the effects of temozolomide. Apigenin and naringenin reduce the cytogenetic effects of genotoxicants with various mechanisms of damaging action. The findings highlight the potential of the investigated flavonoids as genome-protecting agents with a possible targeted action.

**Keywords:** apigenin; naringenin; hesperetin; DNA comets; chromosome aberrations; temozolomide; cyclophosphamide; methyl methanesulfonate; dioxydin; mice.

## To cite this article

Zhanataev AK, Anisina EA, Kulakova AV, Durnev AD. *In vivo* Antigenotoxicity of Apigenin, Naringenin, and Hesperetin: Tissue-Specific Effects. *Ecological genetics*. 2025;23(4):351–360. DOI: [10.17816/ecogen691226](https://doi.org/10.17816/ecogen691226) EDN: JDRUXB

Submitted: 23.09.2025

Accepted: 17.11.2025

Published online: 30.12.2025

## ОБОСНОВАНИЕ

Генотоксичность, вызываемую экзогенными и эндогенными агентами различной природы (генотоксикантами), рассматривают как один из наиболее общих механизмов цитотоксичности и этиопатогенетических факторов возникновения и развития онкологических, сердечно-сосудистых, нейropsychических заболеваний, сахарного диабета, бесплодия, невынашивания беременности и других патологий [1].

Идея использования антигенотоксикантов для профилактики генотоксичности и связанных с ней заболеваний неоднократно обсуждалась в научных кругах [2]. Существенным ограничением широкого применения антигенотоксикантов для защиты генома человека является недостаточность сведений о тканеспецифичности их действия. Для подавляющего большинства антигенотоксикантов протекторная активность выявлена в цитогенетических тестах в активно пролиферирующих тканях [1, 2]. Появление методических возможностей регистрации генотоксичности в непродлиферирующих тканях [3] не только позволило решить эту проблему, но также открыло новые возможности в области поиска таргетных антигенотоксикантов — средств направленной защиты определенных органов/тканей [4].

Таргетные антигенотоксиканты востребованы для защиты нецелевых органов/тканей от цито- и генотоксических воздействий при проведении противоопухолевой терапии [5]. Последняя сопряжена с риском развития вторых первичных опухолей, являющихся причиной летальных исходов более чем у половины леченых пациентов [6]. Принципиальное условие использования таких антигенотоксикантов в онкологии — отсутствие влияния на целевую противоопухолевую активность. Это может быть достигнуто путем подбора антигенотоксикантов с заданными фармакокинетическими и фармакодинамическими свойствами. Возможность подобной таргетной антигенотоксической защиты была недавно экспериментально продемонстрирована на примере способности беталаинов избирательно защищать клетки печени и желудочно-кишечного тракта от генотоксических воздействий [7].

Темозоломид — монофункциональный алкилирующий агент второго поколения, который наиболее широко используется для цитостатической терапии высокозлокачественных опухолей головного мозга. Его применение приводит к развитию миелосупрессии и апластической анемии, а при длительном применении — вторичного миелодиспластического синдрома и острого миелоидного лейкоза [8]. Перспективными соединениями для предупреждения эффектов темозоломида являются природные флавоноиды, обладающие антигенотоксической активностью [9], но имеющие ограниченную способность преодолевать гематоэнцефалический барьер [10], что снижает вероятность их влияния на целевую генотоксическую/противоопухолевую активность цитостатика.

## Цель исследования

Оценить тканеспецифичность антигенотоксической активности флавоноа апигенина (АП) и флавононов нарингенина и гесперетина по отношению к эффектам темозоломида в разных тканях мышей методом ДНК-комет, а также цитогенетически оценить антигенотоксический эффект этих соединений в клетках костного мозга мышей, подвергнутых воздействию генотоксикантов с различными механизмами действия.

## МЕТОДЫ

### Дизайн исследований

Проведено поисковое экспериментальное исследование.

### Критерии отбора

Клинический осмотр животных проводился по 14 показателям.

**Критерии включения:** масса тела не менее 18 г, нормальная поведенческая активность, визуальное отсутствие признаков заболеваний и внешних повреждений.

**Критерии исключения:** в процессе или после завершения экспериментов — гибель животного или выявление врожденных патологий внутренних органов при некропсии. Ослепление применялось на этапе анализа микропрепаратов ДНК-комет и цитогенетических препаратов.

### Распределение в группы

Отобранных для участия в эксперименте животных (235 особей) рандомизированно распределяли на 4 контрольные и 43 экспериментальные группы ( $n=5$  в каждой группе) с использованием программы RandoMice v. 1.1.7. Разброс по исходной массе тела внутри групп и между группами не превышал  $\pm 10\%$ .

### Условия проведения исследования

Эксперименты выполнены на половозрелых самцах мышей  $F_1$  (CBA $\times$ C57Bl/6) массой 20–22 г, в возрасте 8–9 нед., полученных из питомника ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА России, филиал «Столовая». Животных содержали в условиях вивария ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» при 12-часовом световом цикле, свободном доступе к воде и полнорационному гранулированно-экструдированному комбикорму «Профгрызун» (Россия). Условия содержания животных и работы с ними соответствовали требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по защите животных, используемых в научных целях и рекомендации № 33 Евразийской экономической комиссии от 14 ноября 2023 г. «Руководство по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований». Животных подвергали эвтаназии путем цервикальной дислокации.

## Описание эксперимента

Генотоксиканты темозоломид (ТМ) (Macklin, КНР), циклофосфамид (ЦФ) (Cayman Chemical, США), диоксидин (ДН) (Валента-Фарм, Россия) и метилметансульфонат (ММС) (Sigma-Aldrich, США) вводили внутривентриально в виде водного раствора, одновременно с последним введением предполагаемых антигенотоксикантов. В отдельном эксперименте апигенин (АП) вводили однократно через 1 ч после введения ТМ. Мышам контрольных групп вводили перорально 0,5% раствор карбоксиметилцеллюлозы, трехкратно, с интервалом 24 ч между введениями.

Апигенин (АП), нарингенин (НГ) и гесперетин (ГТ) (Macklin, КНР) в виде суспензии в 0,5% растворе карбоксиметилцеллюлозы вводили внутривентриально, трехкратно, с интервалом 24 ч между введениями. Выбор режима обработки с многократным введением определялся низкой биодоступностью соединений, выбор доз основывался на экспериментальных сведениях об их биологической активности *in vivo* [9].

Оценку поврежденности ДНК в клетках костного мозга, печени, почек, головного мозга и прямой кишки проводили методом ДНК-комет в щелочной версии в соответствии с рекомендациями [11]. Животных подвергали эвтаназии через 3 ч после введения темозоломида. Микропрепараты ДНК-комет окрашивали флуоресцирующим красителем SYBR Green I (1:10000 в ТЕ-буфере с pH 8,5 в 50% глицерине) в течение 30 мин. Изображения с микропрепаратов получали на эпифлуоресцентном микроскопе Микмед-2 12Т (Ломо, Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения VEC-335 (ЗВС, Россия), при увеличении  $\times 200$ . Анализ ДНК-комет проводили с использованием программного обеспечения CASP 1.2.2. [12]. В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте ДНК-комет (%ДНК в хвосте). Экспериментальные группы включали по 5 животных, с каждого микропрепарата анализировали не менее 100 ДНК-комет. В качестве статистической единицы использовали медианное значение показателя %ДНК в хвосте для одного органа/ткани от одного животного. При анализе в отдельную группу выделяли атипичные ДНК-кометы с практически отсутствующей головой и широким диффузным хвостом, являющихся косвенным свидетельством цитотоксичности [14]. Уровень атипичных ДНК-комет подсчитывали в процентах на 500 проанализированных ДНК-комет. Для оценки статистической значимости различий между группами использовали критерий  $\chi^2$ . Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения.

Для цитогенетического анализа животных подвергали эвтаназии через 24 ч после введения генотоксиканта. За 2,5 ч до эвтаназии животным вводили колхицин в дозе 4 мг/кг для подавления формирования ахроматинового веретена клеточного деления и накопления метафаз. Цитогенетические препараты костного мозга бедренных костей готовили суховоздушным методом [15]. Препараты

окрашивали азур-эозином. Для анализа использовали микроскоп Standart-20 (Carl Zeiss, Германия) при малоиммерсионном увеличении  $\times 1000$ . Учитывали клетки с ахроматическими пробелами (гепами), хроматидными и хромосомными фрагментами, обменами различного типа [16]. В отдельную категорию выделяли метафазы со множественными повреждениями, имеющие более пяти хромосомных aberrаций. Каждая экспериментальная группа включала по 5 животных, от каждого животного анализировали по 100 метафаз.

Статистическую обработку данных проводили с использованием  $\phi$ -критерия (углового преобразования) Фишера путем сравнения долей aberrантных метафаз между группами. Результаты представлены в виде среднего и его ошибки.

Антигенотоксический эффект (АЭ) вычисляли по формуле:

$$АЭ (\%) = \frac{(Эг - Эгс) \times 100}{Эг},$$

где Эг — эффект (%ДНК в хвосте или поврежденных метафаз) при введении генотоксиканта, Эгс — эффект при введении генотоксиканта и флавоноида.

Критический уровень значимости ( $\alpha$ -уровень) при проверке статистических гипотез в данном исследовании был принят равным 0,05

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В проведенных экспериментах применяли ТМ в дозе 50 мг/кг, что с учетом межвидового пересчета доз соответствует суточной терапевтической дозе для человека. Данная доза генотоксиканта вызывала статистически значимое повышение уровня повреждений ДНК во всех исследованных органах, причем наиболее выраженный эффект наблюдался в печени и почках (табл. 1). Помимо генотоксического действия в почках отмечался цитотоксический эффект, проявлявшийся увеличением доли атипичных ДНК-комет до 44%. В остальных органах не наблюдалось увеличения доли атипичных ДНК-комет.

АП в дозах 25 и 50 мг/кг снижал поврежденность ДНК в клетках костного мозга и печени, в дозе 25 мг/кг — в почках, и в дозах 5 и 50 мг/кг — в прямой кишке. Во всех использованных дозах АП уменьшал уровень атипичных ДНК-комет в почках. Антигенотоксического действия АП в клетках головного мозга не выявлено. НГ проявил антигенотоксическое действие в клетках костного мозга и головного мозга в дозах 50 и 100 мг/кг, в клетках прямой кишки — в дозах 25 и 50 мг/кг. В остальных органах НГ не снижал индуцированную ТМ поврежденность ДНК. Антигенотоксическая активность ГТ в клетках почек, головного мозга и прямой кишки наблюдалась во всех использованных дозах. В костном мозге защитные эффекты выявлены в дозах 25 и 50 мг/кг. В клетках печени ГТ оказался не эффективен.

**Таблица 1.** Влияние апигенина, нарингенина и гесперетина на индуцируемую темозоломидом поврежденность ДНК у мышей, %ДНК в хвосте ( $M \pm SD$ ) / АЭ (%)

**Table 1.** Effect of apigenin, naringenin, and hesperetin on temozolomide-induced DNA damage in mice, %DNA in the tail ( $M \pm SD$ )/AGTE (%)

Группа	Исследуемые органы				
	костный мозг	печень	почки	головной мозг	прямая кишка
Контроль	1,0±0,6	2,0±0,5	1,7±0,8 (4,6±1,5%) <sup>a</sup>	1,2±0,5	3,0±1,8
ТМ 50 мг/кг	6,8±1,6, $p=0,0079^*$	16,5±1,6, $p=0,0079^*$	14,2±2,7, $p=0,0079^*$ (36,6±2,1%, $p=0,0025^s$ )	9,1±0,9, $p=0,0079^*$	8,7±2,7, $p=0,0156^*$
+АП 5 мг/кг	5,3±0,9	17,2±3,5	11,2±2,0 (15,7±3,6%, $p=0,012^{ss}$ )	11,5±2,3	2,7±1,5/100, $p=0,7302^{\wedge}$
+АП 25 мг/кг	2,3±1,5/66, $p=0,0001^{**}$	5,8±0,9/65, $p < 0,0001^{**}$	7,1±4,0/50, $p < 0,0258^{**}$ (4,6±2,7%, $p=0,0079^{ss}$ )	8,3±1,9	11,7±5,4
+АП 50 мг/кг	3,3±1,1/52, $p=0,0014^{**}$	11,4±2,2/31, $p=0,0068^{**}$	11,6±5,2 (20,1±8,8%, $p=0,048^{ss}$ )	7,0±2,3	2,8±0,8/100 $p=0,6905^{\wedge}$
Контроль	1,3±0,2	3,6±0,4	1,8±0,3 (8,8±2,1%)	0,9±0,3	2,0±1,0
ТМ 50 мг/кг	5,6±1,3, $p=0,0079^*$	14,8±4,5, $p=0,0079^*$	11,8±1,9, $p=0,0079^*$ (23,2±6,0%, $p=0,0073^s$ )	9,1±1,5, $p=0,0079^*$	10,3±2,2, $p=0,0079^*$
+НГ 25 мг/кг	4,1±1,1	14,7±3,5	11,6±3,4 (31,3±6,2%)	7,7±1,7	5,3±1,3/49, $p=0,0014^{**}$
+НГ 50 мг/кг	2,9±0,7/48, $p=0,001^{**}$	11,0±1,5	9,6±1,8 (22,6±5,2%)	5,1±0,9/44, $p=0,0019^{**}$	4,8±1,5/54, $p=0,0007^{**}$
+НГ 100 мг/кг	2,1±1,0/62, $p=0,0001^{**}$	13,8±1,8	9,2±1,8 (24,6±6,1%)	6,7±1,9/26, $p=0,049^{**}$	11,2±2,1
Контроль	1,9±0,5	2,4±0,7	2,2±0,8 (6,5±2,2%)	1,9±0,6	2,8±0,7
ТМ 50 мг/кг	6,2±0,7, $p=0,0079^*$	11,1±1,5, $p=0,0079^*$	12,6±2,6, $p=0,0079^*$ (44,0±3,4%, $p=0,0073^s$ )	6,5±0,7, $p=0,0079^*$	9,4±2,2, $p=0,0079^*$
+ГТ 25 мг/кг	4,8±0,7/23, $p=0,0032^{**}$	9,1±0,5	8,4±0,5/33, $p=0,0007^{**}$ (34,5±5,1)	3,8±0,6/42, $p < 0,0001^{**}$	5,7±0,9**/39, $p=0,001^{**}$
+ГТ 50 мг/кг	4,7±0,6/23, $p=0,002^{**}$	10,6±2,2	9,0±0,8/29, $p=0,0027^{**}$ (38,5±4,3%)	5,0±0,5/23, $p=0,0085^{**}$	5,0±0,2**/47, $p=0,0002^{**}$
+ГТ 100 мг/кг	5,3±0,4	11,4±2,5	8,7±0,4/31, $p=0,0013^{**}$ (40,3±8,3%)	4,6±0,9/29, $p=0,0014^{**}$	6,4±1,2/32, $p=0,0065^{**}$

**Примечание.** АП — апигенин; НГ — нарингенин; ГТ — гесперетин; ТМ — темозоломид. <sup>a</sup>Атипичные ДНК-кометы ( $M \pm SD$ ); \*по сравнению с контролем (критерий Манна–Уитни); \*\*по сравнению с эффектом ТМ (критерий Даннета для множественных сравнений); <sup>s</sup>по сравнению с контролем (критерий  $\chi^2$ ); <sup>ss</sup>по сравнению с эффектом ТМ (критерий  $\chi^2$ ); <sup>^</sup>по сравнению с контролем (критерий Манна–Уитни). Доля атипичных ДНК-комет представлена только для почек, поскольку в остальных органах/тканях не наблюдалось увеличения их содержания под воздействием ТМ.

Цитогенетический анализ в клетках костного мозга выявил протекторную активность по отношению к эффектам ТМ у всех трех соединений во всех исследованных дозах (табл. 2). Наибольший антигенотоксический эффект для АП выявлен в дозе 25 мг/кг (73%), для НГ и ГТ — в дозе 100 мг/кг (75 и 55% соответственно). АП при введении через час после ТМ также проявлял антигенотоксическое действие, снижая цитогенетические эффекты генотоксиканта на 47–51%.

Для определения спектра антигенотоксической активности АП и НГ были проведены дополнительные цитогенетические исследования с применением модельных генотоксикантов, различающихся по механизму действия (табл. 3). АП в дозе 25 мг/кг снижал генотоксические эффекты ЦФ и ММС, а в дозах 5 и 25 мг/кг — ДН. В дозах 50 и 100 мг/кг НГ демонстрировал значимую антигенотоксическую активность в отношении ЦФ-индуцированных повреждений, однако

**Таблица 2.** Влияние апигенина, нарингенина и гесперетина на цитогенетические эффекты темозоломида в клетках костного мозга мышей  
**Table 2.** Effect of apigenin, naringenin, and hesperetin on the cytogenetic effects of temozolomide in the bone marrow of mice

Группа	На 100 клеток					Метафаз с аберрациями (M±SE, %)	Антигенотоксический эффект, %
	гепов	хроматидных фрагментов	хромосомных фрагментов	обменов	метафаз с МП <sup>a</sup>		
Контроль	0	0,4	0	0	0	0,4±0,3	–
ТМ 50 мг/кг	1,0	12,0	0	0,8	2,8	14,2±1,6 <sup>#</sup>	–
+АП 5 мг/кг	0,2	6,2	0,2	0,8	0,4	6,8±1,1**	52
+АП 25 мг/кг	0,4	3,4	0,2	0,2	0,4	3,8±0,9*	73
+АП 50 мг/кг	0,2	6,0	0	0,4	1,6	7,2±1,2*	49
ТМ 50 мг/кг	0,8	7,8	0,6	0,2	0,6	8,8±1,3 <sup>#</sup>	–
+НГ 25 мг/кг	1,2	2,6	0	0,2	0,4	4,0±0,9**	55
+НГ 50 мг/кг	0,5	4,3	0	0,3	0,5	4,5±1,0**	49
+НГ 100 мг/кг	0,2	2,0	0,2	0	0	2,2±0,7*	75
ТМ 50 мг/кг	0,8	6,6	0,4	0,4	1,0	8,8±1,3 <sup>#</sup>	–
+ГТ 25 мг/кг	0,6	4,8	0	0,4	0,4	5,4±1,0***	39
+ГТ 50 мг/кг	0	3,6	0	0,2	0,6	4,2±0,9**	52
+ГТ 100 мг/кг	0,6	3,2	0	0,2	0,6	4,0±0,9**	55
Введение АП через 1 ч после ТМ							
ТМ 50 мг/кг	0,4	8,8	0	0,6	0,8	8,6±1,3 <sup>#</sup>	–
+АП 5 мг/кг	0	3,4	0	0,4	1,0	4,6±0,9***	47
+АП 25 мг/кг	0	3,6	0	0	0,6	4,2±0,9**	51
+АП 50 мг/кг	0,6	2,6	0	0,4	0,6	4,2±1,2**	51

Примечание. АП — апигенин; НГ — нарингенин; ГТ — гесперетин; ТМ — темозоломид. <sup>a</sup>Метафаз со множественными (>5 на метафазу) повреждениями хромосом; <sup>#</sup>*p* < 0,001 по сравнению с контролем; \**p* < 0,001, \*\**p* < 0,01; \*\*\**p* < 0,05 по сравнению с эффектом темозоломида (угловой  $\phi$ -критерий Фишера).

**Таблица 3.** Влияние апигенина и нарингенина на цитогенетические эффекты циклофосфамида, метилметансульфоната и диоксидина в клетках костного мозга мышей**Table 3.** Effect of apigenin and naringenin on the cytogenetic effects of cyclophosphamide, methyl methanesulfonate, and dioxydin in the bone marrow of mice

Группа	На 100 клеток					Метафаз с аберрациями (M±SE, %)	Антигенотоксический эффект, %
	гепов	хроматидных фрагментов	хромосомных фрагментов	обменов	метафаз с МП <sup>a</sup>		
Контроль	0	0,4	0	0	0	0,4±0,3	–
ЦФ 20 мг/кг	0,2	12,6	0,2	2,0	2,6	14,6±1,6 <sup>#</sup>	–
+АП 5 мг/кг	0,5	12,8	0,3	2,8	4,0	15,3±1,8	0
+АП 25 мг/кг	0,4	7,4	0	1,6	1,6	9,6±1,3***	34
ДН 250 мг/кг	0	6,5	0	1,0	14,3	19,8±2,0 <sup>#</sup>	–
+АП 5 мг/кг	0,2	5,0	0	1,4	7,8	12,2±1,5**	38
+АП 25 мг/кг	0	2,6	0	0,4	7,4	9,6±1,3*	52
ММС 80 мг/кг	0,4	6,0	0,2	1,6	1,0	8,2±1,2 <sup>#</sup>	–
+АП 5 мг/кг	0,2	5,4	0	1,0	0,4	5,6±1,0	0
+АП 25 мг/кг	0,2	3,0	0	0,6	0,4	3,8±0,9**	54
ЦФ 20 мг/кг	0,4	9,4	0	1,2	3,6	13,0±1,5 <sup>#</sup>	–
+НГ 50 мг/кг	0,4	7,4	0	0,4	0,6	7,4±1,2**	43
+НГ 100 мг/кг	0	3,2	0	0,4	0,6	3,8±0,9*	71
ДН 250 мг/кг	0,4	5,2	0	0,6	11,0	16,4±1,8 <sup>#</sup>	–
+НГ 50 мг/кг	0,2	3,8	0,2	0,2	11,8	14,8±1,7	0
+НГ 100 мг/кг	0,4	3,2	0	0,6	11,6	14,6±1,7	0

Примечание. АП — апигенин; НГ — нарингенин; ЦФ — циклофосфамид; ДН — диоксидин; ММС — метилметансульфонат. <sup>a</sup>Метафаз со множественными (>5 на метафазу) повреждениями хромосом; <sup>#</sup>*p* < 0,001 по сравнению с контролем; \**p* < 0,001, \*\**p* < 0,01; \*\*\**p* < 0,05 по сравнению с эффектом генотоксиканта (угловой  $\phi$ -критерий Фишера).

не оказывал защитного эффекта против генотоксического действия ДН.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что АП, НГ и ГТ обладают тканеспецифической антигенотоксической активностью против эффектов ТМ. Все три соединения проявили защитное действие в клетках костного мозга, оцененное по двум конечным точкам — поврежденности ДНК и частоте хромосомных aberrаций. АП продемонстрировал также способность снижать вызванные ТМ цитогенетические повреждения в условиях постобработки. Аналогичные свойства ранее были показаны для 7-О-гликозида ГТ — геспередина, который при введении через 24 ч после цисплатина уменьшал количество микроядер, индуцированных этим генотоксикантом в костном мозге мышей [17].

Антигенотоксичность АП выявлена в клетках печени, почек и прямой кишки. В прямой кишке АП в дозах 5 и 50 мг/кг снижал повреждение ДНК до уровня контрольной группы. В почках соединение уменьшало количество атипичных ДНК-комет, при этом в дозе 25 мг/кг этот показатель достигал контрольных значений, что свидетельствует о выраженной цитопротекторной активности. Согласно данным Y.H. Siddique и M. Afzal [18], АП также способен снижать повреждение ДНК, вызванное N-нитрозодиаэтиламинном в костном мозге, печени и клетках крови мышей.

НГ и ГТ продемонстрировали антигенотоксическую активность в клетках головного мозга и прямой кишки, ГТ также в почках, однако в печени эффект у обоих соединений отсутствовал. Для гликозида НГ — нарингина — в литературе описана его способность снижать повреждение ДНК, вызванное даунорубицином в гепатоцитах и кардиомиоцитах мышей [19] и митомицином С в клетках печени, почек и головного мозга [20]. Отсутствие защитного действия НГ на печень в настоящем исследовании, вероятно, обусловлено различиями в экспериментальных условиях. В цитируемых работах применяли значительно более высокие дозы нарингина (до 500 мг/кг) [19] или использовали внутрибрюшинное введение, обеспечивающее повышенную биодоступность соединения [20].

В цитогенетическом тесте антигенотоксическая активность АП установлена также в отношении индуктора сшивок ДНК-ДНК ЦФ, монофункционального алкилирующего агента ММС и генотоксиканта с прооксидантным механизмом действия ДН. Уменьшение под действием АП цитогенетических эффектов ЦФ наблюдали в работе A. Vokulić и соавт. [21]. АП снижал частоту хромосомных aberrаций, индуцированных митомицином С в костном мозге мышей [22]. Для НГ установлена способность уменьшать индуцируемую ЦФ частоту хромосомных aberrаций. В условиях 5-дневной предобработки НГ снижал

поврежденность ДНК, уровень хромосомных aberrаций и микроядер в клетках костного мозга мышей, подвергнутых действию оксоплатина [23].

Анализ полученных результатов и литературных данных показывает, что антигенотоксические эффекты АП, НГ и ГТ не имеют дозовой зависимости, либо она носит нелинейный характер. Причина этого очевидно комплексна и обусловлена особенностями их фармакокинетики, мета-/катаболизма и молекулярными механизмами биологической активности. АП, НГ и ГТ характеризуются низкой биодоступностью (<10%), что в первую очередь связано с ограниченной всасываемостью в кишечнике [24]. Абсорбция флавонов и флавононов проходит в тонкой кишке, главным образом путем пассивной диффузии, в меньшей степени за счет активного транспорта с участием специализированных мембранных переносчиков [24]. При увеличении дозировки всасываемость снижается вследствие насыщения транспортных систем и активации эффлюксных транспортеров Р-гликопротеина, MRP1/2 или BCRP [24, 25]. Так, в прямой кишке АП продемонстрировал защитный эффект в дозах 5 и 50 мг/кг, однако в промежуточной дозе 25 мг/кг, показавшей максимальную эффективность в других исследуемых тканях, оказался не активен, что может свидетельствовать об оптимальной всасываемости АП из кишечника в этой дозе. Активация эффлюксных транспортеров предположительно лежит в основе низкой проницаемости ГЭБ для большинства флавоноидов [10].

Несмотря на низкую системную биодоступность АП, НГ и ГТ продемонстрировали антигенотоксические эффекты, сравнимые или превышающие таковые для большинства известных антигенотоксикантов, в том числе синтетической природы [1]. Кроме того, АП проявил протекторную активность по отношению к повреждающим эффектам всех использованных в исследовании генотоксикантов и к эффектам митомицина С [18], N-нитрозодиаэтиламина [22] и бенз[а]пирена [26], а НГ — по отношению к эффектам ТМ, ЦФ, даунорубицина [19], митомицина С [20] и оксоплатина [23]. Совокупность этих данных позволяет предположить существование, помимо антиоксидантного [9], общего универсального механизма реализации антигенотоксического потенциала у исследованных соединений. Особый интерес представляет их способность в относительно низких концентрациях модулировать ключевые сигнальные каскады, участвующие в клеточном ответе на стрессорные воздействия, включая повреждение ДНК [27]. Ведущая роль в этом процессе принадлежит Nrf2-сигнальному пути, который контролирует экспрессию ферментов детоксикации и антиоксидантной защиты [28, 29], регуляцию систем репарации ДНК [30] и обеспечивает баланс между клеточной пролиферацией и гибелью [27, 29].

Таким образом, для АП, НГ и ГТ установлена антигенотоксическая активность по отношению к повреждающим эффектам генотоксикантов с различными механизмами действия. Способность АП и ГТ проявлять

антигенотоксическую активность при постобработке позволяет использовать их для защиты организма после генотоксического воздействия, что значительно увеличивает их практическую ценность. Учитывая важную роль повреждений ДНК в нейродегенеративных процессах [31], наличие у НГ и ГТ антигенотоксической активности в головном мозге предполагает потенциальную нейропротекторную активность этих соединений. Очевидны перспективы дальнейшего поиска высокоэффективных антигенотоксикантов, в том числе таргетного действия, в ряду природных флавонов и флавоноидов и/или их синтетических производных.

АП не проявляет защитных эффектов в клетках головного мозга, но при этом демонстрирует выраженную антигенотоксическую и цитопротекторную активность в органах-мишенях побочного действия ТМ, прежде всего в костном мозге. Это свойство определяет его перспективным кандидатом для разработки в качестве сопроводительного средства, защищающего нецелевые ткани от генотоксического воздействия и тем самым снижающего побочные эффекты при цитостатической терапии опухолей головного мозга. Исследования в этом направлении должны быть сосредоточены в первую очередь на улучшении биодоступности АП.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** А.К. Жанатаев — определение концепции, руководство исследованием, валидация, написание черновика рукописи, пересмотр и редактирование рукописи; Е.А. Анисина — проведение исследования, анализ данных, написание черновика рукописи; А.В. Кулакова — проведение исследования, анализ данных, написание черновика рукописи; А.Д. Дурнев — определение концепции, администрирование проекта, пересмотр и редактирование рукописи. Авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты настоящей работы, гарантируют надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

**Этическая экспертиза.** Проведение исследования одобрено комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (протокол № 3 от 21.02.2024).

**Источник финансирования.** Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках финансирования государственного задания по теме № FGFG-2025-0003.

**Раскрытие интересов.** Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими

лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

**Оригинальность.** При проведении исследования и создании настоящей статьи авторы не использовали ранее полученные и опубликованные сведения (данные, текст).

**Доступ к данным.** Все данные, полученные в настоящем исследовании, доступны в статье.

**Генеративный искусственный интеллект.** При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовались.

**Рассмотрение и рецензирование.** Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали один внешний рецензент, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

## ADDITIONAL INFO

**Author contributions:** A.K. Zhanataev: conceptualization, supervision, validation, writing—original draft, writing—review & editing; E.A. Anisina: investigation, formal analysis, writing—original draft; A.V. Kulakova: investigation, formal analysis, writing—original draft; A.D. Durnev: conceptualization, project administration, writing—review & editing. All the authors approved the version of the manuscript to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

**Ethics approval:** The conduct of the study was approved by the biomedical ethics commission of the Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies (Protocol No. 3 dated February 21, 2024).

**Funding sources:** This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of the state-funded research program (Project/Theme No. FGFG-2025-0003).

**Disclosure of interests:** The authors have no relationships, activities, or interests for the last three years related to for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

**Statement of originality:** No previously obtained or published material (text or data) was used in this study or article.

**Data availability statement:** All data obtained in this study are available in this article.

**Generative AI:** No generative artificial intelligence technologies were used to prepare this article.

**Provenance and peer-review:** This paper was submitted unsolicited and reviewed following the standard procedure. The peer review process involved one external reviewer, a member of the Editorial Board, and the in-house scientific editor.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Durnev AD, Zhanataev AK, Eremina NV. *Genetic Toxicology*. Moscow: Mittel Press; 2022. 286 p. EDN: FBWCBT
2. Durnev AD. Antimutagenesis and antimutagens. *Human Physiology*. 2018;44(3):116–137. doi: 10.7868/S013116461803013X EDN: URBJUW
3. Cordelli E, Bignami M, Pacchierotti F. Comet assay: a versatile but complex tool in genotoxicity testing. *Toxicol Res (Camb)*. 2021;10(1):68–78. doi: 10.1093/toxres/taaa093 EDN: QMGFKA
4. Zhanataev AK. Prospects of targeted antimutagenesis. In: International Congress VIII Congress of the Vavilov Society of Geneticists and Breeders, Dedicated to the 300th Anniversary of Russian Science and Higher Education. Saint Petersburg: Petropolis; 2024. P. 84. (In Russ.) EDN: TOTBVO
5. Agrawal P, Jain M. The amelioration of side effects associated with chemotherapy. *Current Cancer Therapy Reviews*. 2025;21(2):164–175. doi: 10.2174/0115733947274568231121173724

6. Donin N, Filson C, Drakaki A, et al. Risk of second primary malignancies among cancer survivors in the United States, 1992 through 2008. *Cancer*. 2016;122(19):3075–3086. doi: 10.1002/cncr.30164
7. Zhanataev AK, Lisitsyn AA, Anisina EA, et al. Red beetroot extract is safe to DNA and protects against mutagens in mice: a potential chemopreventive agent. *Iranian Journal of Toxicology*. 2024;18(3):138–143. doi: 10.32592/IJT.18.3.138 EDN: WJJAMB
8. Park R, Amin M, Trikalinos NA. Temozolomide duration and secondary hematological neoplasms: A literature review and implications for patients with neuroendocrine neoplasms. *J Neuroendocrinol*. 2022;34(7):e13178. doi: 10.1111/jne.13178 EDN: HMTEKI
9. Luca VS, Miron A, Aprotosoia AC. The antigenotoxic potential of dietary flavonoids. *Phytochem Rev*. 2016;15(4):591–625. doi: 10.1007/s11101-016-9457-1 EDN: PEYBID
10. Shimazu R, Anada M, Miyaguchi A, et al. Evaluation of blood-brain barrier permeability of polyphenols, anthocyanins, and their metabolites. *J Agric Food Chem*. 2021;69(39):11676–11686. doi: 10.1021/acs.jafc.1c02898 EDN: YRFMSW
11. Durnev AD, Merkulov VA, Zhanataev AK, et al. Methodological recommendations for assessing DNA damage by alkaline gel electrophoresis of individual cells in pharmacological studies. In: *Guide to Preclinical Studies of Medicinal Products*. Vol 1. Moscow: Grif & K; 2012. P. 115–128. EDN: WXWGPV
12. Kořica K, Lankoff A, Banasik A, et al. A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay. *Mutat Res*. 2003;534(1–2):15–20. doi: 10.1016/s1383-5718(02)00251-6 EDN: BDBDFL
13. Møller P, Loft S. Statistical analysis of comet assay results. *Front Genet*. 2014;5:292. doi: 10.3389/fgene.2014.00292
14. Zhanataev AK, Anisina EA, Chayka ZV, et al. The phenomenon of atypical DNA comets. *Cell Tiss. Biol*. 2017;11:286–292. doi: 10.1134/S1990519X17040113
15. Preston RJ, Dean BJ, Galloway S, et al. Mammalian *in vivo* cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. *Mutat Res*. 1987;189(2):157–165. doi: 10.1016/0165-1218(87)90021-8
16. Savage JR. Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J Med Genet*. 1976;13(2):103–122. doi: 10.1136/jmg.13.2.103
17. da Silva Passos T, Santana EA, da Mota MM, et al. Hesperidin reduces cisplatin-induced DNA damage in bone marrow cells of mice. *JPP*. 2017;5(5):282–288. doi: 10.17265/2328-2150/2017.05.008
18. Siddique YH, Afzal M. Antigenotoxic effect of apigenin against mitomycin C induced genotoxic damage in mice bone marrow cells. *Food Chem Toxicol*. 2009;47(3):536–539. doi: 10.1016/j.fct.2008.12.006
19. Cariño-Cortés R, Alvarez-González I, Martino-Roaro L, Madrigal-Bujaidar E. Effect of naringin on the DNA damage induced by daunorubicin in mouse hepatocytes and cardiocytes. *Biol Pharm Bull*. 2010;33(4):697–701. doi: 10.1248/bpb.33.697
20. Maatouk M, Mustapha N, Mokdad-Bzeouich I, et al. Heated naringin mitigate the genotoxicity effect of Mitomycin C in BALB/c mice through enhancing the antioxidant status. *Biomed Pharmacother*. 2018;97:1417–1423. doi: 10.1016/j.biopha.2017.11.027
21. Bokulić A, Garaj-Vrhovac V, Brajsa K, et al. The effect of apigenin on cyclophosphamide and doxorubicin genotoxicity *in vitro* and *in vivo*. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2011;46(5):526–533. doi: 10.1080/10934529.2011.551744 EDN: PPXQRX
22. Ali F, Rahul, Naz F, Jyoti S, Siddique YH. Protective effect of apigenin against N-nitrosodiethylamine (NDEA)-induced hepatotoxicity in albino rats. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2014;767:13–20. doi: 10.1016/j.mrgentox.2014.04.006
23. Ganaie MA, Jan BL, Khan TH, et al. The protective effect of naringenin on oxaliplatin-induced genotoxicity in mice. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2019;67(5):433–438. doi: 10.1248/cpb.c18-00809
24. Williamson G, Kay CD, Crozier A. The bioavailability, transport, and bioactivity of dietary flavonoids: a review from a historical perspective. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2018;17(5):1054–1112. doi: 10.1111/1541-4337.12351
25. Zhang J, Liu D, Huang Y, et al. Biopharmaceutics classification and intestinal absorption study of apigenin. *Int J Pharm*. 2012;436(1–2):311–317. doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.07.002
26. Khan TH, Jahangir T, Prasad L, Sultana S. Inhibitory effect of apigenin on benzo(a)pyrene-mediated genotoxicity in Swiss albino mice. *J Pharm Pharmacol*. 2006;58(12):1655–1660. doi: 10.1211/jpp.58.12.0013
27. Huang W, Zhong Y, Gao B, et al. Nrf2-mediated therapeutic effects of dietary flavones in different diseases. *Front Pharmacol*. 2023;14:1240433. doi: 10.3389/fphar.2023.1240433 EDN: COQYEX
28. He F, Ru X, Wen T. NRF2, a transcription factor for stress response and beyond. *Int J Mol Sci*. 2020;21(13):4777. doi: 10.3390/ijms21134777 EDN: DFQPBX
29. Jenkins T, Gouge J. Nrf2 in cancer, detoxifying enzymes and cell death programs. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(7):1030. doi: 10.3390/antiox10071030 EDN: SXQDHA
30. Li J, Zhang H, Jia X, et al. Alterations of DNA repair and immune infiltration in radiation-induced intestinal injury. *Dose-Response*. 2025;23(2):15593258251336820. doi: 10.1177/15593258251336820
31. Welch G, Tsai LH. Mechanisms of DNA damage-mediated neurotoxicity in neurodegenerative disease. *EMBO Rep*. 2022;23(6):e54217. doi: 10.15252/embr.202154217 EDN: YISXII

## ОБ АВТОРАХ

\***Жанатаев Алий Курманович**, канд. биол. наук;  
адрес: Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8;  
ORCID: 0000-0002-7673-8672; eLibrary SPIN: 7070-0510;  
e-mail: zhanataev\_ak@academpharm.ru

**Анисина Елена Александровна**; ORCID: 0000-0002-7542-5658;  
eLibrary SPIN: 1527-6283; e-mail: anisina\_ea@academpharm.ru

## AUTHORS' INFO

\***Aliy K. Zhanataev**, Cand. Sci. (Biology);  
address: 8 Baltiiskaya st, Moscow, 125315, Russia;  
ORCID: 0000-0002-7673-8672; eLibrary SPIN: 7070-0510;  
e-mail: zhanataev\_ak@academpharm.ru

**Elena A. Anisina**; ORCID: 0000-0002-7542-5658;  
eLibrary SPIN: 1527-6283; e-mail: anisina\_ea@academpharm.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

**Кулакова Алла Владимировна**, канд. биол. наук;  
ORCID: 0000-0002-6959-2150; eLibrary SPIN: 6504-1831;  
e-mail: kulakova\_av@academpharm.ru

**Дурнев Андрей Дмитриевич**, д-р мед. наук, профессор,  
академик РАН; ORCID: 0000-0003-0912-7684;  
eLibrary SPIN: 8426-0380; e-mail: durnev\_ad@academpharm.ru

**Alla V. Kulakova**, Cand. Sci. (Biology);  
ORCID: 0000-0002-6959-2150; eLibrary SPIN: 6504-1831;  
e-mail: kulakova\_av@academpharm.ru

**Andrey D. Durnev**, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor, Academician  
of the Russian Academy of Sciences; ORCID: 0000-0003-0912-7684;  
eLibrary SPIN: 8426-0380; e-mail: durnev\_ad@academpharm.ru