

8. Schulze, P. C. Oxidative stress and atherosclerosis / P. C. Schulze, R. T. Lee // Current Atherosclerosis Reports. – 2005. – Vol. 7. – P. 242-248.
9. Watson, J. D. Type 2 diabetes as a redox disease / J. D. Watson // The Lancet. – 2014. – Vol. 383, Is. 9919. – P. 841-843.
10. Yokoyama, M. Oxidant stress and atherosclerosis / M. Yokoyama // Current Opinion in Pharmacology. – 2004. – Vol. 4, Issue 2. – P. 110-115.

ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ КВЕРЦЕТИНА В СУСПЕНЗИИ МИТОХОНДРИЙ И ЭРИТРОЦИТОВ

Вейко А. Г., Ильич Т. В.

УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»

Одним из наиболее важных механизмов клеточного поражения, реализуемых при различных заболеваниях, является дисбаланс окислительно-восстановительного статуса клеток. Этот дисбаланс развивается в двух направлениях: 1) формирование активных форм кислорода, что приводит к активации процессов перекисного окисления мембранных фосфолипидов и окислительного повреждения молекул белков и нуклеиновых кислот; 2) нарушение функционирования системы антиоксидантной защиты клетки и в первую очередь системы метаболизма глутатиона [1].

Флавоноиды обладают широким спектром биологической и фармакологической активности и в первую очередь антиоксидантной активностью, позволяющей регулировать редок-баланс клетки. Кверцетин (3,3',4',5,7-пентагидроксифлавонон) – один из наиболее распространенных флавоноидов. Он обладает доказанной антиоксидантной активностью, противовоспалительными, антимутагенными, иммуномодулирующими свойствами [2] и демонстрирует выраженный терапевтический потенциал при сердечно-сосудистых заболеваниях, диабете и его осложнениях [3], воспалительных состояниях [4], аллергии, онкологических заболеваниях [5]. Недавно показан значительный гепатопротекторный эффект кверцетина при остром токсическом поражении печени: кверцетин предотвращает индуцируемую гепатотоксинами активацию каспазы-3, апоптоз клеток печени,

истощение восстановленного глутатиона (GSH), перекисное окисление липидов (ПОЛ) и белков клеток печени [6]. В тоже время молекулярные механизмы цитопротекторных эффектов кверцетина требуют дальнейшего изучения.

Цель исследования – выяснить механизмы взаимодействия кверцетина с мембранными структурами в модели окислительного стресса в суспензии эритроцитов и митохондрий. В настоящей работе нами показано, что кверцетин эффективно предотвращает перекисное окисление липидов мембран эритроцитов и митохондрий, индуцируемое терт-бутилгидропероксидом. А эффективность ингибирования кверцетином окисления восстановленного глутатиона значительно ниже, что отражает липофильность полифенола.

Методы исследования. Митохондрии из печени крыс выделяли методом дифференциального центрифугирования [7]. Для получения эритроцитов гепаринизированную кровь крыс центрифугировали при 3000 об/мин для отделения плазмы. Эритроциты трижды промывали изотоническим раствором. Митохондрии (12 мг белка/мл в среде выделения) или эритроциты (10 %-ный гематокрит в PBS) экспонировали *t*BHP (700 мкМ) в течение 30 мин при 27°C в отсутствие или в присутствии. Количество продуктов ПОЛ, ТБК-реактивных соединений (ТБКРС) в митохондриях печени и эритроцитах крыс определяли после воздействия *t*BHP по методу Stoks and Dormandy [8], используя коэффициент экстинкции $156 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (532 нм), концентрацию GSH в митохондриях и эритроцитах – спектрофотометрически по методу Ellman [9], используя коэффициент экстинкции $13,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (412 нм).

Результаты и их обсуждение. Известный агент *t*BHP, аналог гидроперекисей липидов, индуцировал ПОЛ мембран и окисление GSH в эритроцитах и митохондриях печени крыс. В нашем эксперименте кверцетин в концентрации 5–100 мкМ дозозависимо ингибировал ПОЛ мембран эритроцитов и митохондрий печени крыс (рис. 1, 2). Определенное нами значение IC_{50} , соответствующее концентрации кверцетина, вызывающей 50 %-ное ингибирование процесса ПОЛ, для мембран эритроцитов составляло $\text{IC}_{50} = 25 \pm 3 \text{ мкМ}$, для митохондриальных мембран – $31 \pm 4 \text{ мкМ}$ (см. рис. 1, 2).

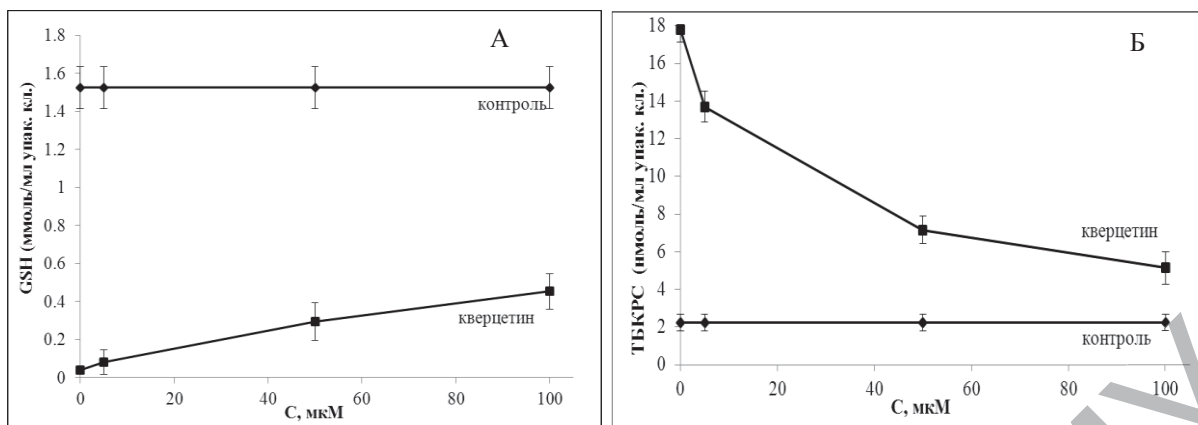


Рисунок 1 - Перекисное окисление липидов (А) и окисление восстановленного глутатиона (Б) эритроцитов крыс в отсутствие и в присутствии кверцетина

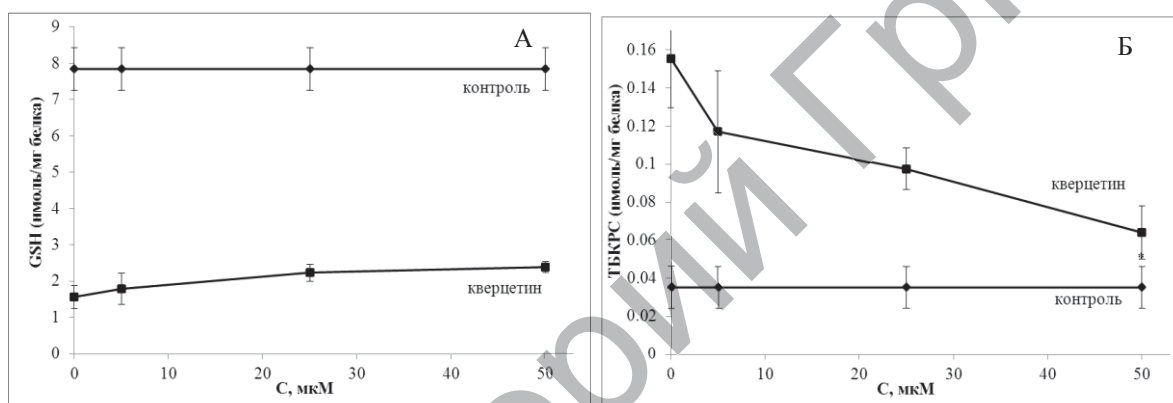


Рисунок 2 - Перекисное окисление липидов (А) и окисление восст. глутатиона (Б) в митохондриях печени крыс в отсутствие или в присутствии кверцетина.

Эффективность кверцетина в предотвращении окисления GSH была ниже по сравнению с эффективностью ингибирования окисления мембранных компонентов, что отражает липофильность флавоноида.

Как известно, дисфункция митохондрий в результате окислительного воздействия является основным этапом развития ряда патологических состояний. Интерес представляет обнаруженный нами протекторный эффект кверцетина при окислительном повреждении митохондрий. В нашем эксперименте кверцетин эффективно взаимодействовал со свободными радикалами (алкоксильным, пероксильным, образующимися при трансформации *tBHP*), предотвращая тем самым окислительное повреждение митохондрий и эритроцитов *in vitro*, ингибируя процессы ПОЛ (образование ТБКРС), лизис эритроцитов и, в меньшей степени,

окисление GSH. Ранее было показано, что кверцетин (5–10 мкМ) практически полностью ингибировал окисление липопротеинов с низкой плотностью (ЛПНП), индуцируемое миелопероксидазой, существенно предотвращал стимулированное НАДФН ПОЛ микросомальных мембран печени крыс, восстанавливал окислительно-восстановительный дисбаланс в клетках HUVEC, вызванный окси-ЛПНП, что свидетельствовало об антиатерогенном и противовоспалительном действии растительных полифенолов [10]. При этом растительные полифенолы (кверцетин, вербаскозид, резвератрол) препятствовали развитию сосудистых воспалений и осложнений не только как прямые антиоксиданты, но и как регуляторы клеточных сигнальных каскадов и экспрессии генов, ассоциированных с редокс-балансом и воспалением [11]. Исследование кверцетина и других растительных полифенолов, представляет интерес для разработки новых методов коррекции патологических процессов, и поиска новых эффективных лекарственных препаратов на основе соединений природного происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Polyphenols and glutathione synthesis regulation / J. Moskaug [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2005. – Vol. 81, N 1. – P. 277S-283S.
2. Quercetin protects against heat stroke-induced myocardial injury in male rats: antioxidative and antiinflammatory mechanisms / X. Lin [et al.] // *Chem.-Biol. Interact.* – 2017. – Vol. 16, N 265. – P. 47-54.
3. Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes / L. Aguirre [et al.] // *Open Nutraceuticals J.* – 2011. – Vol. 4. – P. 189-198.
4. Anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human in vitro and in vivo models / R. Kleemann [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2011. – Vol. 218, N 1. – P. 44-52.
5. Williams, R. J. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules / R. J. Williams, J. P. E. Spencer, C. A. Rice-Evans // *Free Radical Biol. Med.* – 2004. – Vol. 36, N 7. – P. 838-849
6. Quercetin prevents pyrrolizidine alkaloid clivorine-induced liver injury in mice by elevating body defense capacity / L. Ji [et al.] // *PLoS ONE.* – 2014. – Vol. 9, N 6. – P. e98970.
7. Johnson, D. Isolation of liver or kidney mitochondria / D. Johnson, H. A. Lardy // *Meth. Enzymol.* – 1967. – Vol. 10. – P. 94-96.

8. Stocks, J. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide / J. Stocks, T. L. Dormandy // Br. J. Haematol. – 1971. – Vol. 20, N 1. – P. 95-111.
9. Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – Vol. 82, N 1. – P. 70-77.
10. Функциональные нарушения в эндотелиальных клетках при воздействии окисленных ЛПНП и их коррекция растительными полифенолами / А. И. Потапович [и др.] // Вестн. БГУ. Сер. 2, Биология. – 2010. – № 3. – С. 43-47.
11. Antioxidant and signal modulation properties of plant polyphenols in controlling vascular inflammation / V. A. Kostyuk [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 2011. – Vol. 658, N 2–3. – P. 248-256.

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОАКТИВНЫХ АМИНОКИСЛОТ В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ОДНОКРАТНОМ СОВМЕСТНОМ ВВЕДЕНИИ ЭТАНОЛА И МОРФИНА

Величко И. М., Лелевич С. В., Лелевич В. В.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Актуальность. Алкогольная интоксикация оказывает существенное влияние на функционирование основных нейромедиаторных систем головного мозга [6]. В частности, на моделях острой алкогольной интоксикации продемонстрировано усиление ГАМК-ергической проводимости в некоторых отделах ЦНС, сопровождаемой повышением концентрации экстрасинаптической ГАМК. По другим данным, ГАМК-ергическая система отвечает также за мотивацию к потреблению этанола. Гипотеза о роли ГАМК-ергической системы ЦНС в проявлении некоторых острых эффектов этанола нашла подтверждение в ранних работах, согласно которым введение агонистов ГАМК_A-ергических рецепторов усиливало поведенческие эффекты этанола, тогда как антагонисты ослабляли проявления острой алкогольной интоксикации [1, 6].

В патогенезе морфиновой интоксикации важную роль играют нарушения взаимодействия нейромедиаторных систем головного мозга [4, 6]. Это утверждение относится практически ко всем основным нейротрансмиттерам: опиоидам, дофамину,