

4. Клинецвич С. И., Бертель И. М., Хильманович В. Н. Формирование электронного обучающего контента для дистанционного обучения с использованием среды Moodle // Перспективы развития высшей школы: материалы X Междунар. научн.-метод. конф. / редкол.: В. К. Пестис [и др.]. – Гродно: ГГАУ, 2017. – С. 268–270.

АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ФЛАВОНОИДА НАРИНГЕНИНА В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫС *IN VITRO*

**Ильич Т. В., Коваленя Т. А., Савко А. И., Алимими Дургам Али Хуссейн,
Аль-Джумаили Мустафа Ахмед Кхалил**

*Гродненский государственный университет имени Янки Купалы,
г. Гродно, Беларусь*

Актуальность. Явление окислительного стресса связано с нарушением в клетках и тканях редокс-баланса, накоплением активных форм кислорода (АФК), что приводит к биохимическим и физиологическим повреждениям, сопровождающимся нарушениями клеточного метаболизма и, как следствие, гибелью клеток по некротическому пути [8]. Изучение этого процесса в настоящее время актуально в связи с разнообразием патологических состояний, ассоциированных с окислительным стрессом.

Фенольные соединения, в частности флавоноиды, группа БАВ, встречающиеся в природе гидроксипроизводных флавоноидов, обладают несколькими биологическими свойствами (антиоксидантными, гепатопротекторными, антитромботическими, противовоспалительными, противовирусными и др.) [2]. Нарингенин (4',5,7-тригидроксифлаванон) представляет собой флавоноид (флаванон) [11]; встречается как наринутин (нарингенин-7-О-рутинозид) или нарингенин-глюкозид (нарингенин-7-О-глюкозид) [5] в основном в цитрусовых. Антиоксидантную активность флавоноидов связывают со структурой молекул [4], а именно наличием гидроксильных заместителей (ОН), которые обладают высокой реакционной способностью в отношении АФК. В целом антиоксидантная способность молекул полифенолов увеличивается в зависимости от количества ОН-групп в молекуле, которая в случае нарингенина равна 3 [4]. Однако в дополнение к прямому антиоксидантному эффекту по удалению свободных радикалов нарингенин обладает способностью инициировать эндогенную антиоксидантную систему, имеет большое значение как возможный гепатопротектор, так как один из основных механизмов поражения печени – я окислительный стресс [1].

Цель – оценить антиоксидантную активность флавоноида нарингенина при моделировании окислительного стресса *in vitro* трет-бутилгидропероксидом (tBHP) в митохондриях печени крыс.

Материалы и методы исследования. Митохондрии выделяли, используя метод дифференциального центрифугирования [7]. В суспензии изолированных митохондрий содержание GSH определяли методом Элмана, используя коэффициент молярной экстинкции $\varepsilon_{412} = 13600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [33]. Содержание

смешанных дисульфидов глутатиона с белками (GSSP) определяли методом Р. Росси [9]. Концентрацию стабильных продуктов перекисного окисления мембранных липидов в митохондриях, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (TBARS), определяли спектрофотометрическим методом, используя молярный коэффициент экстинкции $\epsilon_{532}=1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [10]. Достоверность межгрупповых различий оценивали, используя однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с применением теста Тьюки.

Результаты. В настоящем исследовании при экспонировании митохондрий tBHP (1 мМ) наблюдается развитие выраженного окислительного стресса: уменьшение содержания GSH в 8 раз по сравнению с контрольными митохондриями, возрастание уровня GSSP и уровня ТБКРС в 2 и 3 раза, соответственно ($p<0,05$) (рисунок 1). Внесение в среду инкубации флавоноида нарингенина дозозависимо предотвращало развитие окислительных повреждений митохондрий клеток печени при действии tBHP. Нарингенин (5 мкМ) ингибировал перекисное окисление липидов митохондриальных мембран (содержание ПОЛ снизилось на 25% по сравнению с митохондриями в присутствии 1 мМ tBHP) ($p<0,05$); окисление GSH (уровень GSH вырос на 20% по сравнению с митохондриями, обработанными окислителем), образование GSSP (содержание GSSP снизилось в 2 раза по сравнению с митохондриями в присутствии 1 мМ tBHP) ($p<0,05$). Нарингенин (50 мкМ) ингибировал перекисное окисление липидов митохондриальных мембран в 2 раза, образование GSSP – в 3,5 раза по сравнению с митохондриями в присутствии 1 мМ tBHP, соответственно ($p<0,05$). Уровень GSH возрос в 2 раза по сравнению с митохондриями, экспонированными окислителем ($p<0,05$) (рисунок).

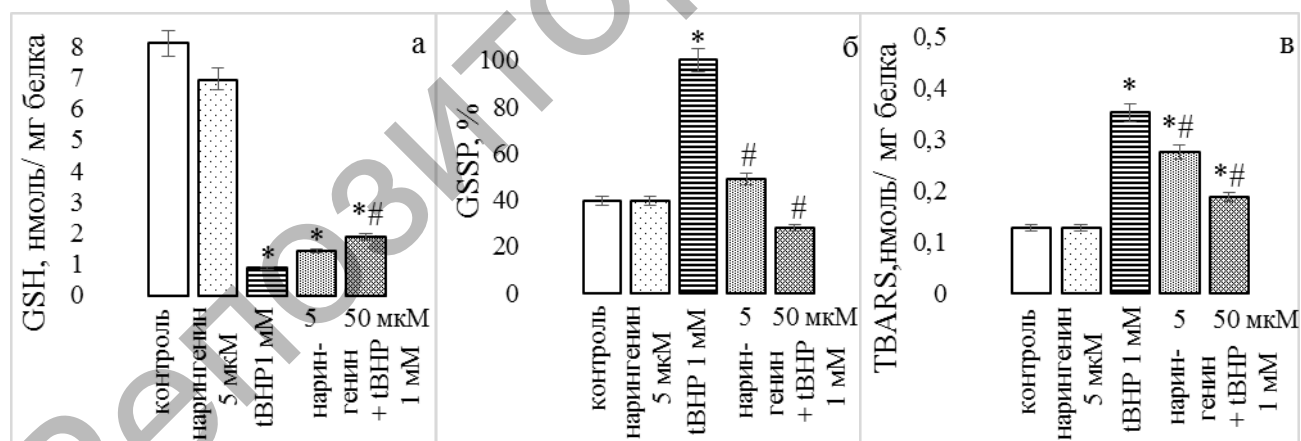


Рисунок – Показатели антиоксидантной защиты митохондрий печени крыс при воздействии tBHP (1 мМ) в присутствии нарингенина

- а) содержание восстановленного глутатиона в митохондриях печени крыс;
- б) содержание дисульфидов глутатиона с белками в митохондриях печени крыс;
- в) содержание продуктов перекисного окисления липидов в митохондриях печени крыс;

* - по сравнению с контрольными митохондриями, $p<0,05$;

- по сравнению с митохондриями в присутствии 1 мМ tBHP, $p<0,05$

Ранее нами был оценен антиоксидантный потенциал флавоноида кверцетина в присутствии tBHP (700 мкМ). Предварительное внесение в суспензию митохондрий кверцетина (50 мкМ) оказывало протекторный эффект: уровень ТБКРС уменьшался на 60%, содержание восстановленного глутатиона возрастало на 25% по сравнению с митохондриями, экспонированными окислителем в отсутствие антиоксиданта ($p < 0,05$) [6].

Выводы. Таким образом, при моделировании окислительного стресса воздействием на митохондрии tBHP (1мМ) мы наблюдали уменьшение уровня восстановленной формы глутатиона, возрастание содержания смешанных глутатион-белковых дисульфидов и TBARS. Флавоноид нарингенин эффективно взаимодействует со свободными радикалами, генерируемыми tBHP (алкоксильным, пероксильным), практически полностью ингибирует образование продуктов ПОЛ, частично восстанавливает содержание GSH.

ЛИТЕРАТУРА

1. Casas-Grajales S., Muriel P. The liver, oxidative stress and antioxidants. In: Muriel P. Liver pathophysiology: therapies & antioxidants. Waltham, MA: Elsevier. – 2017. – P. 583–604.
2. Chen Y., Zheng R., Jia Z. et al. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants // Free Radic. Biol. Med. – 1990. – Vol. 9. – P. 19–21.
3. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – Vol. 82. – P. 70–77.
4. Heim K. E., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J. Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships // J. Nutr. Biochem. – 2002. – Vol. 13. – P. 572–584.
5. Hernández-Aquino E., Muriel P. Naringenin and the liver. In: Muriel P. Liver pathophysiology: therapies & antioxidants. Waltham, MA: Elsevier. – 2017. – P. 633–651.
6. Ilyich T. V., Veiko A. G., Lapshina E. A. et al. Quercetin and its complex with cyclodextrin against oxidative damage of mitochondria and erythrocytes: experimental results in vitro and quantum-chemical calculations biophysics // Biophysics. – 2018. – Vol. 63. – P. 537–548.
7. Johnson D., Lardy H. A. Isolation of liver or kidney mitochondria // Methods in Enzymology. – 1967. – Vol. 10. – P. 94–101.
8. Pryor W. Oxy-radicals and related species: Their formation, lifetimes, and reactions // Ann. Rev. Physiol. – 1986. – Vol 48. – P. 657–667.
9. Rossi R., Cardaioli E., Scaloni A. et al. Thiol groups in proteins as endogenous reductants to determine glutathione-protein mixed disulphides in biological systems // Biochim. Biophys. Acta. – 1995. – Vol. 1243. – P. 230–238.
10. Stocks J., Dormandy T. L. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide // British J. of Haematology. – 1971. – Vol. 20. – P. 95–111.
11. Yen F. L., Wu T. H., Lin L. T. et al. Naringenin-loaded nanoparticles improve the physicochemical properties and the hepatoprotective effects of naringenin in orally-administered rats with CCl4-induced acute liver failure // Pharm. Res. – 2009. – Vol. 26. – P. 893–902.