

АДАПТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА РЕСВЕРАТРОЛА

Жигачева И.В.¹, Крикунова Н.И.¹, Русина И.Ф.², Расулов М.М.³¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
ул. Косыгина, 4, г. Москва, 11933, РФ; e-mail: zhigacheva@mail.ru² ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН
ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119334, РФ; e-mail: rusina939@mail.ru³ Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений, ш. Энтузиастов, 38, г. Москва, 105118, РФ; e-mail: rasulovmaksud@gmail.com

Поступила в редакцию: 19.07.2019

Аннотация. Исследована биологическая и антирадикальная активность природного полифенола – ресвератрола. (РВ). Хемиллюминесцентным методом показаны высокие значения антирадикальной активности этого препарата. При этом на модельной системе «старения» митохондрий (инкубация митохондрий в гипотонической инкубационной среде) продемонстрировано, что препарат в диапазоне концентраций 10^{-5} - 10^{-14} М предотвращал активацию ПОЛ в мембранах митохондрий печени крыс и митохондрий проростков гороха, что, вероятно, свидетельствовало о наличии у РВ антистрессовых свойств. Протекторные свойства препарата исследовали, используя модель острой гипобарической гипоксии (ОГГ) для крыс и модель дефицита воды для проростков гороха. ОГГ приводила к 1,5-3-кратному росту интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий. Активация ПОЛ сопровождалась изменениями в жирнокислотном (ЖК) составе общей липидной фракции мембран митохондрий. Коэффициент ненасыщенности C_{18} ЖК снижался на 15%, а содержание ЖК с очень длинной цепью (ЖКОДЦ): 22:4 ω 6 и 22:5 ω 3 снижалось почти на 28%. Введение животным $2,2 \times 10^{-5}$ М ресвератрола в течение 5 дней предотвращало изменения жирнокислотного состава митохондрий и активацию ПОЛ, что влияло на физиологические показатели. Ресвератрол в 2,0-2,5 раза увеличивал продолжительность жизни и на 10-15% повышал выживаемость мышей при различных видах гипоксии. Кроме того, препарат предотвращал торможение роста проростков гороха в условиях дефицита воды. Делается предположение, что адаптогенные свойства препарата обусловлены его антиоксидантной и антирадикальной активностью.

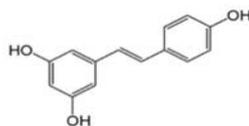
Ключевые слова: ресвератрол, ПОЛ, митохондрии, жирнокислотный состав мембран, острая гипобарическая гипоксия, дефицит воды.

Ресвератрол (3,5,4'-тригидрокси-транс-стильбен) представляет собой полифенольное соединение со структурой стильбена. Его находят в растениях, таких как арахис, виноград и некоторые ягоды [1]. Содержание ресвератрола в растениях варьирует и увеличивается в ответ на биотические и абиотические стрессы [2]. Он рассматривается как антиоксидант и противовоспалительное средство [3, 4]. Кроме того, ресвератрол предотвращает возрастные заболевания, рак кожи и осуществляет защиту от сердечно-сосудистых заболеваний [5, 6]. Препарат оказывает нейрозащитное действие при нейродегенеративных заболеваниях, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона, болезнь Паркинсона, а также может защитить мозг от повреждения, вызванного токсинами и травмами [7].

Его протекторные свойства, возможно, объясняются активацией гистоновых и белковых деацетилаз: лизин деацетилазы и сиртуин1 (SIRT1) [5]. При этом, ресвератрол является активатором сигнального пути Notch [8], регулирующего миграцию клеток – предшественников костного мозга, стимулирующего пролиферацию кардиомиоцитов и, активность прогениторных клеток сердца [9].

Основная мишень для ресвератрола - митохондрии, играющие одну из основных ролей в энергетическом метаболизме клетки. По мнению Naïg Gueguen с соавторами [10] действие препарата направлено на комплекс I дыхательной цепи митохондрий. Используя солубилизованный комплекс I, авторы продемонстрировали конкуренцию между НАД⁺ и ресвератролом. В низких дозах (<5 мкМ) ресвератрол стимулировал активность комплекса I, тогда как в высоких дозах (50 мкМ) он снижал его активность. Препарат способен осуществлять защиту от окислительного стресса *in vitro* и *in vivo*. Он предотвращая высвобождение цитохрома c и снижая генерацию супероксидного анион радикала путем экспрессии гена *SOD 2* (митохондриальной Mn-SOD), либо активируя разобщающий белок UCP2 в мембранах митохондрий [11]. В высоких концентрациях препарат вызывал нарушение окислительно-восстановительного статуса клетки, увеличение генерации АФК митохондриями, а также открытие митохондриальной неспецифической поры (mPTP), что вело к снижению жизнеспособности клеток [12]. Механизм, с помощью которого ресвератрол влияет на функциональное состояние митохондрий до конца не изучен, и в связи с этим довольно актуальна проблема исследования молекулярных механизмов, лежащих в основе протекторного действия ресвератрола на структуру и функции митохондрий.

Целью нашего исследования было изучение антирадикальной и биологической активности ресвератрола:



Ресвератрол

Работу проводили на митохондриях печени крыс, подверженных стрессовому воздействию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили на крысах линии Wistar, весом 150-170 г. Поскольку препарат обладает низкой биодоступностью, антистрессовые свойства ресвератрола частично исследовали на 5-дневных этиолированных проростках гороха (*Pisum sativum* L), сорт Флора 2, которые обрабатывали водными растворами препарата. Это обеспечивало его поступление к клеткам зародыша и эндосперма.

Регулирующие стандарты.

Исследования выполнялись согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации, в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [12], Strasburg, 1986, согласно утвержденному письменному протоколу, в соответствии со стандартными операционными процедурами исследователя (СОП), а также с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [13].

Крысам опытной группы (РВ) в/брюшинно вводили 2×10^{-5} М раствор ресвератрола в течение 5 дней.

Семена гороха промывали водой с мылом и 0.01% раствором KMnO_4 . Контрольную группу семян в течение 30 мин. замачивали в воде, а опытную группу – в 2×10^{-5} М растворе препарата (РВ). Затем все семена переносили на влажную фильтровальную бумагу, где они находились в темноте в течение суток. После этого половину проростков контрольной группы (ДВ) и проростки, обработанные РВ, на 2 суток переносили на сухую фильтровальную бумагу. Спустя 2 суток все проростки переносили на влажную фильтровальную бумагу, где они оставались в течение последующих 2 суток. Вторая половина семян контрольной группы оставалась на влажной фильтровальной бумаге в течение 5 суток. На пятые сутки выделяли митохондрии из эпикотилей проростков всех исследуемых групп.

Выделение митохондрий печени проводили методом дифференциального центрифугирования [15]. Первое центрифугирование при 600 g в течение 10 минут, второе – при 9000 g, 10 минут. Осадок ресуспендировали в среде выделения. Соотношение ткань: среда – 1:0.25. Среда выделения: 0,25 М сахараза, 10 мМ HEPES , pH 7,4.

Выделение митохондрий из эпикотилей этиолированных проростков гороха проводили методом дифференциального центрифугирования [16]. Эпикотили гороха гомогенизировали в среде, содержащей: 0,4 М сахарозу, 5 мМ ЭДТА, 20 мМ KH_2PO_4 (pH 8.0), 10 мМ KCl , 2 мМ дитиотреитол и 0.1% бычий сывороточный альбумин (БСА), свободный от жирных кислот (ЖК). Гомогенат центрифугировали при 25000 g в течение 5 мин. Полученный осадок ресуспендировали в 8 мл среды и центрифугировали при 3000 g в течение 3 мин. Осаждение митохондрий проводили в течение 10 мин при 11000 g. Осадок ресуспендировали в 2-3 мл среды, содержащей: 0,4 М сахарозу, 20 мМ KH_2PO_4 (pH 7.4), 0,1% БСА (свободный от жирных кислот) и вновь осаждали митохондрии при 11000 g в течение 10 мин.

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали флуоресцентным методом [17]. Липиды экстрагировали смесью хлороформ: метанол = 2:1 (по объему) из митохондрий, содержащих 3-5 мг белка. Соотношение митохондрии: смесь хлороформ-метанол = 1:10. Регистрацию флуоресценции проводили в десяти миллиметровых кварцевых кюветках на спектрофлуориметре FluoroMax-HoribaYvon GmbH (Германия). Длина волны возбуждения флуоресценции была 360 нм, испускания – 420-470 нм. Результаты выражали в условных единицах флуоресценции пересчитанных на мг. белка.

Антирадикальную активность (АРА) препарата оценивали хемилюминисцентным методом (ХЛ) по эффекту торможения жидкофазного окисления этилбензола (RH), которое инициировали термическим распадом азобисизобутиронитрила АИБИН (60°). Интенсивность ХЛ усиливали 9,10-дибромантраценом. Эффективную константу $k_{\text{ин}}$ рассчитывали из серии ХЛ кривых с разной концентрацией ресвератрола (РВ) [18]. Полученные результаты соотносили с данными, полученными с использованием известного антиоксиданта дибунола.

Метилловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) получали кислотным метанолизом липидов мембран митохондрий [19, 20]. МЭЖК экстрагировали гексаном и полученные растворы анализировали.

Идентификацию МЭЖК проводили методом хромато-масс-спектрометрии (ГХМС) и по величинам индексов удерживания [21]. ГХМС осуществляли на хромато-масс-спектрометре Hewlett-Packard-6890 с масс-селективным детектором HP-5972. МЭЖК разделяли на капиллярной колонке HP15MS (30 м \times 0,25 мм, слой фазы 0,25 мкм) при программировании температуры от 60 до 285°C со скоростью $5^\circ\text{C}/\text{мин}$. Температура испарителя – 250°C , детектора – 280°C . Масс-спектры получали в режиме электронного удара при ионизирующем напряжении 70 эВ и скорости сканирования 1 с/10 масс в области 40-450 а.е.м.

Определение количественного состава МЭЖК проводили на хроматографе марки Кристалл 2000М (Россия) с пламенно-ионизационным детектором и кварцевой капиллярной колонкой DB-1 (50 м × 0,32 мм, слой 0,25 мкм). Анализ МЭЖК проводили при программировании температуры от 120 до 270°C со скоростью 4°C/мин. Температура инжектора и детектора – 270°C; скорость газа-носителя гелия составляла 2,0 мл / мин, деление потока на входе в колонку - 1:40. Содержание МЭЖК в образцах рассчитывали, как отношение площади пика соответствующей кислоты к сумме площадей пиков, соответствующих найденным МЭЖК. Стандартное отклонение средних значений площадей пиков, полученных в трех измерениях, не превышало 5% (относительное значение). Математическая обработка результата проводилась с использованием Microsoft Excel и Sigma Plot 10.

Острая гипобарическая гипоксия. В барокамере создавали разрежение, соответствующее высоте 9,0 тысяч метров над уровнем моря. «Подъем» проводили в первую минут до 5 тыс. м., а в каждую последующую еще на одну тысячу метров (Время нахождения крыс «на высоте» 9,0 тысяч метров над уровнем моря – 5,0 минут).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили путем определения средних арифметических и их стандартных ошибок. Достоверность различий между вариантами со значимостью $P \leq 0,05$.

В эксперименте использовали реактивы следующих фирм: метанол, хлороформ (Merck, Германия), сахараза, Трис, (Sigma, США), БСА (свободный от жирных кислот) (Sigma, США), NERES (MP Biomedicals, Германия), дитиотреитол (AppliChem), карбонат калия, метанол, хлороформ (Merck, Германия), гексан (Panreac, Испания), ацетилхлорид (Acros, Бельгия), Neres (4- (2-Гидроксиэтил) пиперазин-1-этансульфоновая кислота) (Biochemica Ultra, для молекулярной биологии) (MB Biomedicals, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что в условиях стресса одним из основных источников активных форм кислорода являются митохондрии [22]. Поэтому для поиска концентраций ресвератрола (РВ), эффективно снижающих генерацию АФК митохондриями была разработана модель «старения» митохондрий. Модель заключалась в инкубации митохондрий в гипотонической среде в присутствии 1 мМ $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$, вызывающий слабое набухание митохондрий [23, 24]. «Старение» митохондрий проростков гороха и митохондрий печени крыс приводило к активации свободно радикального окисления, а, следовательно, и к активации ПОЛ в мембранах митохондрий. При этом интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий проростков гороха возрастала в 4 раза и в 3 раза в мембранах митохондрий печени крыс (рис. 1).

Введение РВ в среду инкубации митохондрий как растительного, так и животного происхождения снижало интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ и имело дозозависимость. В концентрации 10^{-4} М препарат не влиял на интенсивность ПОЛ в мембранах «стареющих» митохондрий, а в концентрации 10^{-3} М проявлял прооксидантный эффект. При этом РВ в концентрационном интервале от 10^{-5} - 10^{-14} М снижал интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ почти до контрольных значений. Можно предположить, что РВ обладает и антирадикальной активностью. Действительно, полученные значения константы ингибирования свободнорадикального окисления ($k_{\text{inh}} = 2,01-2,28 \times 10^4 \text{ Мс}^{-1}$) ресвератролом (РВ) и стехиометрического коэффициента ингибирования ($f = 1,9$) свидетельствуют о высокой антирадикальной активности препарата.

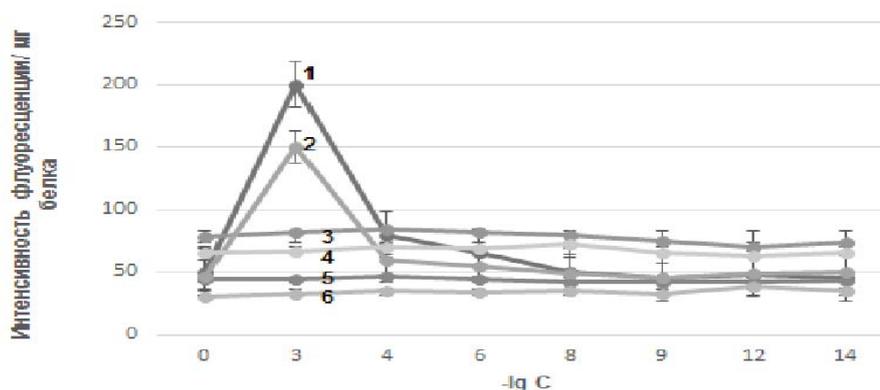


Рисунок 1. Интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий печени крыс и митохондрий 5-дневных проростков гороха. Условные обозначения: 1 – «старение» митохондрий проростков гороха+ различные концентрации РВ; 2 – «старение» митохондрий печени крыс + различные концентрации РВ; 3 – «старение» митохондрий проростков гороха; 4 – «старение» митохондрий печени крыс; 5 – контроль (митохондрии проростков гороха); 6 – контроль (митохондрии печени крыс)

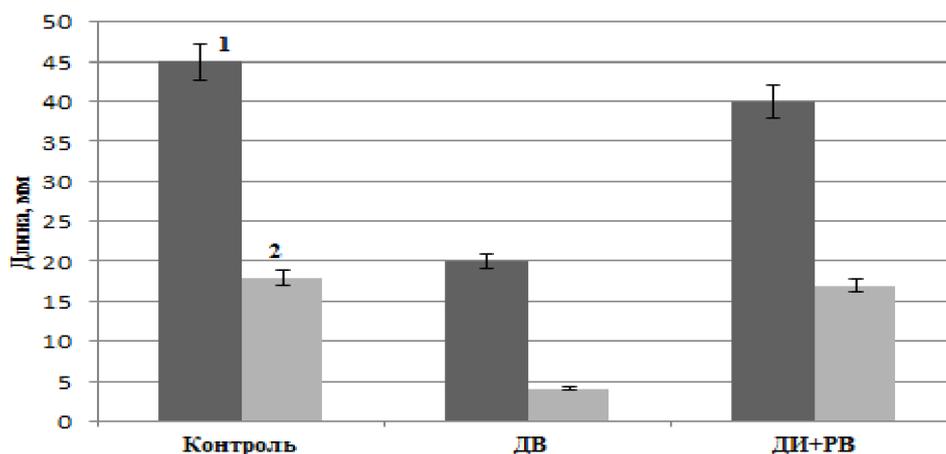


Рисунок 2. Влияние дефицита воды и ресвератрола на рост побегов (1) и корней (2) проростков гороха. Условные обозначения: ДВ – проростки гороха, находящиеся в условиях дефицита воды; РВ – проростки гороха, находящиеся в условиях дефицита воды и обрабатываемые 2×10^{-5} М раствором ресвератрола

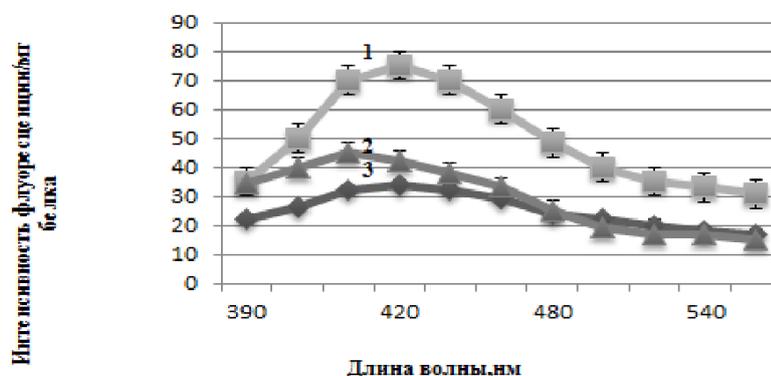


Рисунок 3. Влияние острой гипобарической гипоксии (ОГГ) и ресвератрола (РВ) на спектры флуоресценции продуктов ПОЛ. Условные обозначения: 1 – ОГГ; 2 – ОГГ + РВ; 3 – контроль

Наличие высокой антирадикальной и антиоксидантной активности у ресвератрола, вероятно, могло свидетельствовать о наличии у препарата антистрессовых свойств. Проверку на наличие этих свойств проводили используя модели острой гипобарической гипоксии (ОГГ) для крыс и дефицита воды для проростков гороха.

Известно, что проростки гороха особенно чувствительны к дефициту воды [25]. В наших экспериментах мы использовали наиболее чувствительную к дефициту воды стадию роста проростков гороха (однодневных семян). Дефицит воды тормозил процессы роста проростков (рис. 2), что согласуется с данными литературы [26, 27]. Обработка семян гороха ресвератролом предупреждала это торможение, что подтверждало предположение о наличии у препарата антистрессовых свойств.

Дальнейшие исследования протекторных свойств ресвератрола проводили на крысах, которым в течение 5 дней вводили 2×10^{-5} М раствор ресвератрола и подвергали стрессовому воздействию. В качестве стрессового воздействия использовали модель острой гипобарической гипоксии (ОГГ). ОГГ сопровождалась к 1,5-3-кратным увеличением интенсивности флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий печени крыс (рис. 3).

Активация ПОЛ приводила к изменениям в жирнокислотном (ЖК) составе общей липидной фракции мембран митохондрий. Изменения наблюдались в содержании жирных кислот, содержащих 18 и 20 углеродных атомов. Так индекс ненасыщенности C_{18} ЖК снижался на 15% (рис. 4). Соотношение суммарного содержания C_{18} ненасыщенных ЖК к содержанию стеариновой кислоты снижалось с $1,69 \pm 0,10$ до $1,45 \pm 0,09$. При этом содержание 18:2 ω 6 уменьшалось на 8%, а содержание 18:1 ω 7 – на 28%. Снижение содержания линолевой кислоты – одной из основных жирных кислот, входящих в состав кардиолипина, обеспечивающего эффективную работу дыхательной цепи митохондрий, вероятно, приводило к снижению энергетического метаболизма клетки [28, 29]. Происходили изменения и в содержании C_{20} ЖК. Так содержание 22:5 ω 3 и 22:4 ω 6 снизилось на 28%. Учитывая, что эйкозаноиды являются сигнальными молекулами и имеют широкий спектр биологических функций, включая усиление или подавление воспалительных реакций, аллергии, лихорадки и других иммунных реакций; контроль артериального давления и секреции слизи и кислоты в желудке, сокращение или расслабление гладких мышц [30], снижение содержания этих ЖК, возможно, также, как и снижение содержания линолевой кислоты, влияло на устойчивость организма к стрессовым воздействиям.

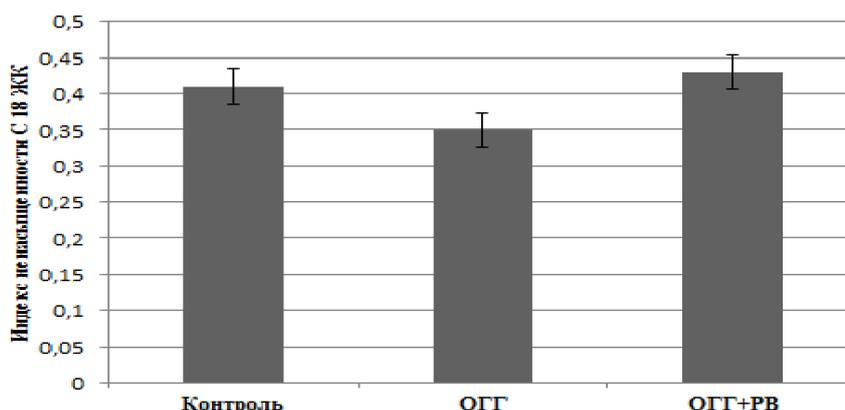


Рисунок 4. Влияние острой гипобарической гипоксии (ОГГ) и ресвератрола (РВ) на индекс ненасыщенности ЖК, содержащих 18 углеродных атомов

Введение животным РВ предотвращало активацию ПОЛ и изменения в жирнокислотном составе общей липидной фракции мембран митохондрий печени.

Изменение физико-химических свойств мембран митохондрий, по-видимому, оказывало влияние на функциональное состояние этих органелл, а, следовательно, и на энергетический метаболизм, что, возможно, отражалось на устойчивости организма к действию стрессовых факторов. Действительно, введение 2×10^{-5} М раствор ресвератрола в течение 5 дней в 2,0-2,5 раза увеличивала продолжительность жизни и на 10-15% повышала выживаемость мышей в условиях различных видов гипоксии (табл. 1).

Таблица 1. Протекторная активность ресвератрола (Представлены результаты 10 опытов)

Воздействие	Измеряемый параметр	Контроль	Ресвератрол, 2×10^{-5} М
Подъем на высоту 11,5 тыс. м (гипобарическая гипоксия)	Время жизни в минутах % выживших	4,0±1,1 20%	8,0± 1,2 30%
Инъекция азида натрия 20 мг/кг (цитотоксическая гипоксия)	Время жизни в минутах % выживших	3,0±0,6 0%	7,6±1,1 15%
Инъекция нитрита натрия 250 мг/кг (гемическая гипоксия)	Время жизни в минутах % выживших	13,1±2,5 20%	32,5±3,0 36%

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основываясь на полученных результатах, можно прийти к заключению, что адаптогенные свойства ресвератрола могут быть обусловлены его антиоксидантной и антирадикальной активностью. Снижение интенсивности процессов свободнорадикального окисления находит отражение в низкой интенсивности ПОЛ. Препарат, предотвращая перекисидацию фосфолипидов, главным образом кардиолипина, по-видимому, предупреждая диссоциацию суперкомплексов дыхательной цепи митохондрий [31] и таким образом, вероятно, повышал устойчивость организма к действию стрессоров. Этому также способствовало сохранение пула эйкозаноидов в мембранах митохондрий [32].

Список литературы / References:

1. Diaz-Gerevini G.T., Repossi G., Dain A., Tarres M.C., Das U.N., Eynard A.R.. Beneficial action of resveratrol: How and why? *Nutrition*, 2016, vol. 32, pp. 174-178. DOI: 10.1016/j.nut.2015.08.017.
2. Jeandet P., Douillet-Breuil A.C., Bessis R., Debord S., Sbaghi M., Adrian M. Phytoalexins from the Vitaceae: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, no. 10, pp. 2731-2741. DOI: 10.1021/jf011429s.
3. Cucciolla V., Borriello A., Oliva A., Galletti P., Zappia V., Ragione F.D. Resveratrol: From basic science to the clinic. *Cell Cycle*, 2007, vol. 6, no. 20, pp. 2495-2510. DOI: 10.4161/cc.6.20.4815.
4. Shigematsu S., Ishida S., Hara M., Takahashi N., Yoshimatsu H., Sakata T. et al. Resveratrol, a red wine constituent polyphenol, prevents superoxide-dependent inflammatory responses induced by ischemia/reperfusion, platelet-activating factor, or oxidants. *Free Radic Biol Med.*, 2003, vol. 34, pp. 810-817. pmid: 1265446.
5. Baur J.A., Sinclair D.A. Therapeutic potential of resveratrol: the *in vivo* evidence. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2006, vol. 5, pp. 493-506.
6. Muhammad M.H., Allam M.M. Resveratrol and/or exercise training counteract aging-associated decline of physical endurance in aged mice; targeting mitochondrial biogenesis and function. *J. Physiol. Sci.*, 2018, vol. 68, no. 5, pp. 681-688. DOI: 10.1007/s12576-017-0582-4.

7. Saiko P., Szakmary A., Jaeger W., Szekeres T. Resveratrol and its analogs: defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad? *Mutat. Res.*, 2008, vol. 658, no. 1-2, pp. 68-94. DOI: 10.1016/j.mrrev.2007.08.004
8. LaFoya B., Munroe J.A., Albig A.R. A comparison of resveratrol and other polyphenolic compounds on Notch activation and endothelial cell activity. *PLoS/One*, 2019, vol. 14, no. 1, p. e0210607. DOI: 10.1371/journal.pone.0210607.
9. Дергилев К.В., Зубкова Е.С., Белоглазова И.Б., Меньшиков М.Ю., Парфенова Е.В. Сигнальный путь Notch – терапевтическая мишень для регуляции репаративных процессов в сердце. *Терапевтический архив*, 2018, № 12, с. 112-121. [Dergilev K.V., Zubkova E.S., Beloglazova I.B., Menshikov M.Yu., Parfenova E.V. Notch signaling pathway is a therapeutic target for the regulation of reparative processes in the heart. *Terapevticheskiy arkhiv*, 2018, no. 12, pp. 112-121. (In Russ.)]
10. Gueguen N., Desquirit-Dumas V., Leman G., Chupin St., Baron St., Nivet-Antoine V., Vessières E., Ayer A., Henrion D., Lenaers G., Reynier P., Procaccio V. Resveratrol Directly Binds to Mitochondrial Complex I and Increases Oxidative Stress in Brain Mitochondria of Aged Mice Increases. Oxidative Stress in Brain Mitochondria of Aged Mice. *PloS/One*, 2015, vol. 10, no.12, p. e0144290.
11. Moreira A.C., Silva A.M., Santos M.S., Sardão V. A Resveratrol affects differently rat liver and brain mitochondrial bioenergetics and oxidative stress in vitro: Investigation of the role of gender. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, vol. 53, pp. 18-26. DOI: 10.1016/j.fct.2012.11.031.
12. Gadacha W., Ben-Attia M., Bonnefont-Rousselot D., Aouani E., Ghanem-Boughanmi N., Touitou Y. Resveratrol opposite effects on rat tissue lipoperoxidation: pro-oxidant during day-time and antioxidant at night. *Redox Rep.*, 2009, vol. 14, no. 4, pp. 154-158. DOI: 10.1179/135100009X466131.
13. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123)*, Strasbourg, 1986
14. Каркищенко Н.Н., Грачевой С.В. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. М: Профиль, 2010, 358 с. [Karkishchenko N.N., Gracheva S.V. *Manual on laboratory animals and alternative models in biomedical research*. М: Profil', 2010, 358 p. (In Russ.)]
15. Mokhova E.N., Skulachev V.P., Zhigacheva I.V. Activation of external pathway of NADH oxidation in liver mitochondria of cold-adapted rats. *BBA*, 1978, vol. 501, no. 3, pp. 415-423. DOI: 10.1016/0005-2728(78)90109-3.
16. Попов В.Н., Руге Э.К., Старков А.А. Влияние ингибиторов электронного транспорта на образование активных форм кислорода при окислении сукцината митохондриями гороха. *Биохимия*, 2003, т. 686, № 7, с. 910-916 [Popov V.N., Ruge E.K., Starkov A.A. The effect of electron transport inhibitors on the formation of reactive oxygen species during the oxidation of succinate with pea mitochondria. *Biokhimiya*, 2003, vol. 686, no 7, pp. 910-916. DOI: 10.1023/A:1025078815819. (In Russ.)]
17. Fletcher B.I., Dillard C.D., Tappel A.L. Measurement of Fluorescent Lipid Peroxidation Products in Biological Systems and Tissues. *Ann. Biochem.*, 1973, vol. 52, no. 1, p. 1-9. DOI: 10.1016/0003-2697(73)90327-8.
18. Шляпинтох В.Я., Карпукхин О.Н., Постников Л.М., Захаров И.В., Вичутинский А.А., Цепалов В.Ф. *Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов*. М: Наука, 1966, 300 с. [Shlyapintokh V.Ya., Karpukhin O.N., Postnikov L.M., Zakharov I.V., Vichutinsky A.A., Tsepalov V.F. *Chemiluminescent methods for the investigation of slow chemical processes*. М: Nauka. 1966, 300 p. (In Russ.)]
19. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of Macroscale Method to the Microscale for Fatty Acid Methyl Transesterification of Biological Lipid Extracts. *J. Chromatogr.*, 1979, vol. 151, no. 3, pp. 384-390. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)88356-9Get.
20. Wang J., Sunwoo H., Cherian G., Sim I.S. Fatty Acid Determination in Chicken Egg Yolk: a Comparison of Different Methods Poultry. *Sci.*, 2000, vol. 79, no. 8, pp. 1168-1171. DOI: 10.1093/ps/79.8.1168.
21. Golovina R.V., Kuzmenko T.E. Thermodynamic Evaluation Interaction of Fatty Acid Methyl Esters with Polar and Nonpolar Stationary Phases, Based on Their Retention Indices. *Chromatogr.*, 1977, vol. 10, no. 9, pp. 545-546. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007%2FBF02262915>.
22. Зоров Д.Б., Исаев Н.К., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Стельмашук Е.В., Васильева А.К., Архангельская А.А., Хряпенкова Е.Г. Митохондрии как многоликий янус. *Биохимия*, 2007, т. 72, № 10, с. 1371-1384. [Zorov D.B., Isaev N.K., Plotnikov E.Yu., Zorova L.D., Stelmashuk E.V., Vasilyeva A.K., Arkhangelskaya A.A., Khryapenkova E.G. Mitochondria as a multifaceted Janus. *Biokhimiya*, 2007, vol. 72, no. 10, p. 1371-1384. (In Russ.)]
23. Aronis A., Komarnitsky R., Shilo Sh., Tirosh O. Membrane depolarization of isolated rat liver mitochondria attenuates permeability transition pore opening and oxidant production. *Antioxidant and redox signaling*, 2004, vol. 4, no. 4, p. 647-654. DOI: 10.1089/15230860260220157.
24. O'Rourke B. Mitochondrial Ion Channels. *Annual Review of Physiol.*, 2007, vol. 69, pp. 19-49. DOI: 10.1146/annurev.physiol.69.031905.163804.
25. Генерозова И.П., Шугаев А.Г. Респираторный метаболизм митохондрий проростков гороха разного возраста в условиях дефицита воды. *Физиол. растений*, 2012, т. 596, № 2, с. 262-227. [Generozova I.P., Shugaev A.G. Respiratory metabolism of mitochondria of pea seedlings of different ages under conditions of water deficiency. *Fiziolyu rasteniy*, 2012, vol. 596, no. 2, pp. 262-227. (In Russ.)]
26. Koster K.L., Reisdorph N., Ramsau J.L. Changing Desiccation Tolerance of Pea Embryo Protoplasts during Germination. *J. Exp. Bot.*, 2003, vol. 54, pp. 1607-1614. DOI: 10.1093/jxb/erg17.
27. Okçu G., Kaya M.D., Atak M. Effects of Salt and Drought Stresses on Germination and Seedling Growth of Pea (*Pisum sativum* L.). *Turk. J. Agric. For.*, 2005, vol. 29, pp. 237-242.

28. Paradies G., Petrosillo G., Pistolesse M., Venosa N., Federici A., Ruggiero F.M. Decrease in Mitochondrial Complex I Activity in Ischemic/Perfused Rat Heart. Involvement of Reactive Oxygen Species and Cardiolipin. *Circulation Research*, 2004, vol. 94, no. 1, pp. 53-59. DOI: 10.1161/01.RES.0000109416.56608.64.
29. Acin-Perez R., Enriquez J.A. The function of the respiratory supercomplexes: The plasticity model. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, vol. 1837, no. 4, pp. 444-450. DOI: 10.1016/j.bbabi.2013.12.009.
30. de Carvalho C.C.C.R., Caramujo M.J. The Various Roles of Fatty Acids. *Molecules*, 2018, vol. 23, no. 10, pp. E 2583. DOI: 10.3390/molecules23102583.
31. Genova M.L., Lenaz G. Functional role of mitochondrial respiratory supercomplexes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, vol. 1837, no. 4, pp. 427-443. DOI: 10.1016/j.bbabi.2013.11.002.
32. Muller-Navarra D.C., Brett M.T., Park S., Chandra S., Ballantyne A.P., Zorita E., Goldman Ch.R. Unsaturated fatty acid content in seston and tropho-dynamic coupling in lakes. *Nature*, 2004, vol. 427, no. 6969, pp. 69-72. DOI: 10.1038/nature02210.

ADAPTOGENIC PROPERTIES OF RESVERATROL

Zhigacheva I.V.¹, Krikunova N.I.¹, Rusina I.F.², Rasulov M.M.³

¹ N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences
st. Kosygin, 4, Moscow, 11933, Russia; e-mail: zhigacheva@mail.ru

² N.N. Semenov Institute of Chemical Physics Russian Academy of Sciences
st. Kosygin, 4, Moscow, 119334, Russia; e-mail: rusina939@mail.ru

³ State Scientific Research Institute of Chemistry and Technology of Organoelement Compounds
w. Enthusiasts, 38, Moscow, 105118, Russia; e-mail: rasulovmaksud@gmail.com

Abstract. The biological and anti-radical activity of natural polyphenol – resveratrol (RV) was investigated. Chemiluminescent method showed high rates of antiradical activity of this drug. At the same time, on the model system of “aging” of mitochondria (incubation of mitochondria in the hypotonic incubation medium), it was shown that the drug in the concentration range of 10^{-5} – 10^{-14} M prevented the activation of LPO in the mitochondrial membranes of the rat liver and mitochondria of pea seedlings, which probably testified to the presence of anti-stress properties in RV. The protective properties of the drug were investigated using a model of acute hypobaric hypoxia (AHH) for rats and a model of water deficiency for pea seedlings. AHH resulted in a 1.5-3-fold increase in the fluorescence intensity of LPO products in mitochondrial membranes. The activation of lipid peroxidation was accompanied by changes in the fatty acid (FA) composition of the total lipid fraction of mitochondrial membranes. The unsaturation coefficient of C₁₈ FA decreased by 15%, and the content of FA with a very long chain (VLCFAs): 22: 4ω6 and 22: 5ω3 decreased by almost 28%. Introduction of 2.2×10^{-5} M resveratrol to animals within 5 days prevented changes in fatty acid composition of mitochondria and activation of LPO, which influenced physiological parameters. Resveratrol 2.0-2.5 times increased life expectancy and 10-15% increased the survival of mice in various types of hypoxia. In addition, the drug prevented inhibition of growth of pea seedlings in conditions of water scarcity. It is suggested that the adaptogenic properties of the drug are due to its antioxidant and antiradical activity.

Key words: resveratrol, POL, mitochondria, fatty acid composition of membranes, acute hypobaric hypoxia, water deficiency.