

УДК: [582.943:615.451.16:611.018.21:612.014.46]:616-092.4

ОЦЕНКА ПРОТЕКТИВНОГО ЭФФЕКТА ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ РОДА *LAMIAM* ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ В КУЛЬТУРЕ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

Терлецкая В.А.¹, Лукашов Р.И.¹, Бутенко А.В.², Квачёва З.Б.², Полешко А.Г.²

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

²ГНУ «Институт биофизики и клеточных технологий НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Проведено исследование протективного эффекта экстрактов травы *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lamium maculatum* в культуре дермальных фибробластов человека на модели H₂O₂-индуцированного окислительного стресса в сравнении с кислотой аскорбиновой. Экстракты травы растений рода *Lamium* полностью поглощались фибробластами, что свидетельствует о высокой биодоступности и преимущественно внутриклеточном механизме действия. Все исследованные экстракты продемонстрировали антиоксидантную активность, достоверно снижая уровень продуктов перекисного окисления липидов во внеклеточной среде, причем экстракт травы *Lamium maculatum* обеспечивал максимальный эффект (–60,6 %), превосходя действие кислоты аскорбиновой (–20,6 %). Экстракты травы *Lamium purpureum* и *Lamium maculatum* также оказывали внутриклеточное антиоксидантное действие, снижая уровень ТБК-активных продуктов, тогда как кислота аскорбиновая, напротив, индуцировала их накопление в цитозоле. Эти свойства делают экстракты растений рода *Lamium* перспективными средствами для профилактики окислительного стресса, в том числе в соединительных тканях женской репродуктивной системы.

Ключевые слова: *Lamium album*; *Lamium purpureum*; *Lamium maculatum*; фибробласты дермы; ТБК-активные продукты.

Введение. Фибробласты играют ключевую роль в патогенезе хронических гинекологических заболеваний, ассоциированных с окислительным повреждением. Избыток активных форм кислорода (АФК), вызванный воспалением, гормональным дисбалансом, метаболическими нарушениями, экзогенными факторами, способен стать триггером изменения фибробластами секреции внеклеточного матрикса и провоспалительных медиаторов, что способствует фиброзным изменениям, нарушению регенерации тканей и ремоделированию стромы. Эти процессы лежат в основе развития ряда гинекологических заболеваний, включая эндометриоз, фиброз матки и яичников, а также атрофические и дистрофические состояния влагалища и вульвы [1]. В исследовании в качестве клеточной модели использовали дермальные фибробласты человека, характеризующиеся высокой чувствительностью к окислительному стрессу и широко применяемые для первичной оценки антиоксидантной активности природных и синтетических соединений. Несмотря на тканевую специфику фибробластов различных органов, базовые механизмы перекисного окисления липидов (ПОЛ), регуляция антиоксидантной системы и повреждения клеточных структур под действием АФК являются общими и воспроизводимыми в культуре [2]. Это

делает целесообразным использование дермальных фибробластов в качестве модели для предварительного скрининга антиоксидантных эффектов, в том числе – при моделировании окислительного повреждения, ассоциированного с гинекологической патологией [3].

Измерение уровней ТБК-активных продуктов (веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой), отражающих содержание малонового диальдегида (МДА), остается чувствительным и воспроизводимым методом оценки ПОЛ и степени окислительного повреждения клеток. Методика широко применяется для анализа антиоксидантной или прооксидантной активности природных и синтетических соединений в клеточных моделях окислительного стресса, в том числе – на фибробластах кожи человека [4; 5; 6; 7].

Цель работы – провести *in vitro* оценку антиоксидантного эффекта экстрактов травы *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lamium maculatum* на модели H₂O₂-индуцированного окислительного стресса в культуре дермальных фибробластов кожи человека.

Материалы и методы

Получение экстрактов. Траву *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* заготавливали в 2024 г. в период массового цветения в окрестностях

Минска, подвергали воздушно-теневого сушке. Экстракцию проводили по методике: точную навеску сырья со степенью измельчения 90–355 мкм экстрагировали 2-кратно 1,5 часа этанолом 40 % на водяной бане при температуре 80 °C и соотношении сырья и экстрагента 1 г : 50 мл. Экстракт выпаривали, сухой остаток суспендировали в фосфатном буферном растворе (ФБР) до концентрации фенольных соединений 50 мкМ в пересчете на кислоту хлорогеновую. Для приготовления 1 литра ФБР использовали: 8,00 г NaCl; 0,20 г KCl; 1,44 г Na₂HPO₄; 0,24 г KH₂PO₄. Содержание фенольных соединений и кислоты хлорогеновой определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Культивирование клеток. Накопленную массу фибробластов 3–5 пассажа рассаживали по 100 тыс/мл в стерильные флаконы и инкубировали до монослоя 70–80 % 24 часа. Через 24 часа среду заменяли на поддерживающую (модифицированная Дульбекко среда Игла (DMEM) со средой Хэма F-12 и добавлением 2 % фетальной бычьей сыворотки) и добавляли исследуемые фитоэкстракты.

Эксперимент включал следующие группы: отрицательный контроль – клетки без дополнительного воздействия после 24 часов культивирования; положительный контроль – клетки, обработанные 200 мкМ H₂O₂ в течение трех часов; контроль биологически активных веществ (БАВ) – клетки, инкубированные с исследуемыми экстрактами в концентрациях 50 мкМ либо аскорбиновой кислотой в концентрации 10 мкМ без индукции окислительного стресса; профилактическая схема – клетки предварительно инкубировали с экстрактами (50 мкМ) или кислотой аскорбиновой (10 мкМ) в течение 24 часов, после чего индукцию стресса проводили добавлением 200 мкМ H₂O₂ на три часа.

После завершения инкубации культуральную жидкость сливали и сохраняли для анализа внеклеточного уровня ТБК-активных продуктов. Клеточный монослой промывали 3 мл ФБР, затем обрабатывали 3 мл раствора версена (0,02 %-ный раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты в ФБР) в течение 3–5 минут. После этого добавляли 0,5 мл раствора трипсина, равномерно распределяя его по поверхности флакона. Отделение клеток контролировали микроскопически (увеличение×10). По-

сле отсоединения клеток вносили 3 мл среды DMEM с ФБР, суспензию переносили в пробирки и подвергали ультразвуковой гомогенизации в течение 30 минут.

Определение содержания ТБК-активных продуктов. К 1 мл гомогената клеток или культуральной жидкости добавляли 1 мл ФБР, 0,5 мл 30 % раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУК) и 2 мл 0,8 % раствора тиобарбитуровой кислоты. Смесь кипятили на водяной бане 15 минут (плотно закрывающиеся пробирки прикрывали фольгой во избежание испарения). Образовавшийся белковый осадок удаляли путем центрифугирования при 3000 оборотах в минуту в течение 10 минут. Супернатант отбирали и измеряли оптическую плотность раствора при 532 нм. В качестве контрольного раствора использовали смесь, содержащую все реактивы, за исключением исследуемого образца (2 мл ФБР, 0,5 мл 30 % ТХУК, 2 мл 0,8 % ТБК).

По величине оптической плотности рассчитывали содержание ТБК-активных продуктов по формуле (1):

$$C = \frac{A}{\varepsilon \times l \times n} \text{ моль/мг белка,}$$

где A – оптическая плотность при $\lambda = 532 \text{ нм}$; ε – молярный коэффициент поглощения тиобарбитуровой кислоты, $\varepsilon = 1,56 \times 10^{-5} \text{ моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$; l – ширина кюветы (1 см); n – концентрация белка в пробе в мг на 1 мл разведенного гомогената.

Определение содержания общего белка. Определяли с использованием биуретовой реакции. К 0,1 мл исследуемого образца добавляли 5 мл рабочего раствора биуретового реактива, тщательно перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут. Оптическую плотность измеряли при 532 нм в кювете с толщиной слоя 1 см по отношению к контрольной пробе, содержащей вместо исследуемого образца 0,1 мл изотонического раствора NaCl. Концентрацию белка рассчитывали по предварительно построенному по альбумину калибровочному графику.

Определение поглощающей способности фибробластов. ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием проводилась с использованием хроматографической системы Ultimate 3000 (Thermo Scientific) и программного обеспечения Chromeleon (Thermo Scientific).

Разделение компонентов осуществлялось на обращенно-фазовой колонке SunShell C₁₈ (150 × 2,1 мм, 2,6 мкм; ChromaNik Technologies Inc., Япония).

В качестве элюентов использовали:

фаза А – 0,1 %-ная муравьиная кислота в воде;

фаза В – 0,1 %-ная муравьиная кислота в ацетонитриле.

Применялась следующая градиентная программа:

от 0 до 17 мин – от 10 до 19 % фазы В,
от 17 до 37 мин – от 19 до 21 % фазы В,
от 37 до 50 мин – от 21 до 40 % фазы В.

Скорость потока составляла 0,2 мл/мин. Между инъекциями проводилось промывание колонки в течение 10 минут. Объем инъекции гомогената клеток или культуральной жидкости – 2 мкл. Температура колонки – 25 °С. Спектры УФ-поглощения регистрировали в диапазоне 200–450 нм.

Эксперименты выполнялись в трех независимых повторностях ($n = 3$). Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение. Для оценки статистической значимости различий между группами использовали однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA). Вычисления выполняли в программном пакете Microsoft Excel, уровень значимости принимался $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Поглощающая способность культуры фибробластов по остаточному содержанию веществ в культуральной жидкости. На рис. 1–4 представлены результаты оценки поглощающей способности фибробластов в отношении кислоты аскорбиновой и экстрактов травы *L.album*, *L.purpureum*, *L.maculatum* при добавлении H₂O₂.

По результатам сопоставительного анализа хроматограмм культуральной жидкости и клеточных гомогенатов не обнаружены пики, соответствующие основным БАВ экстрактов растений рода *Lamium*. Отсутствие характерных пиков в культуральной жидкости свидетельствует о том, что компоненты фитоэкстрактов прочно ассоциируются с клеточной поверхностью и проникают внутрь фибробластов, где подвергаются биотрансформации. Это указывает на активный транспорт БАВ через клеточную мембрану и их метаболизм эндогенными ферментными системами, что подтверждает способность фибробластов эффективно захватывать и преобразовывать БАВ растений рода *Lamium* для последующего внутриклеточного действия. Данные согласуются с исследованием поглощения иных БАВ: так, методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием установлено,

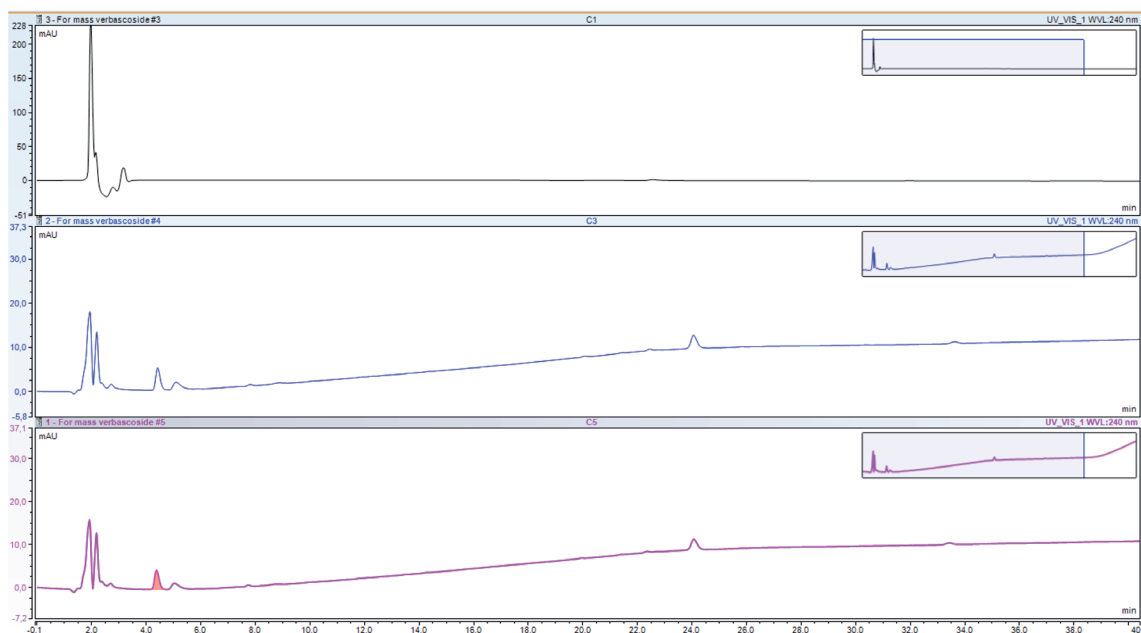


Рис. 1. Хроматограммы культуральной жидкости контрольных проб фибробластов, фибробластов с добавлением H₂O₂, фибробластов с добавлением кислоты аскорбиновой соответственно

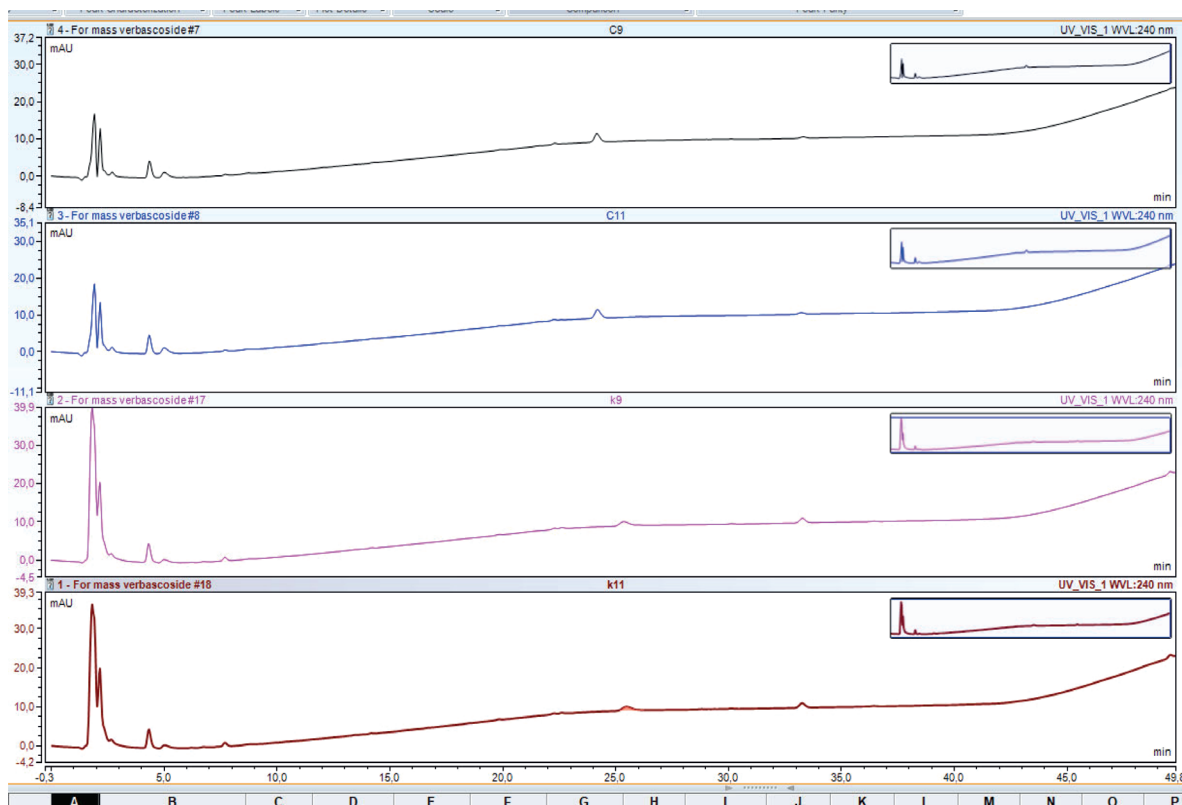


Рис. 2. Хроматограммы культуральной жидкости при добавлении экстракта *L.album*, экстракта *L.album* и H_2O_2 ; гомогената фибробластов при добавлении экстракта *L.album*, экстракта *L.album* и H_2O_2 соответственно

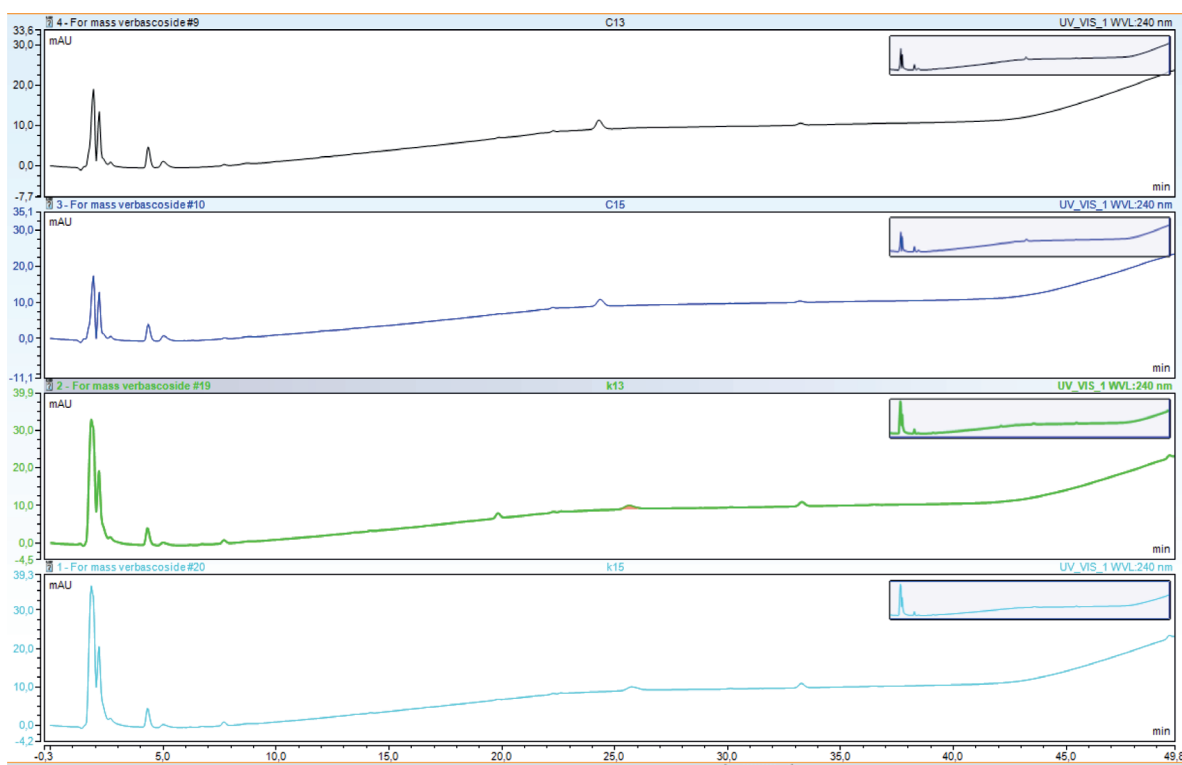


Рис. 3. Хроматограммы культуральной жидкости при добавлении экстракта *L.purpureum*, экстракта *L.purpureum* и H_2O_2 ; гомогената фибробластов при добавлении экстракта *L.purpureum*, экстракта *L.purpureum* и H_2O_2 соответственно

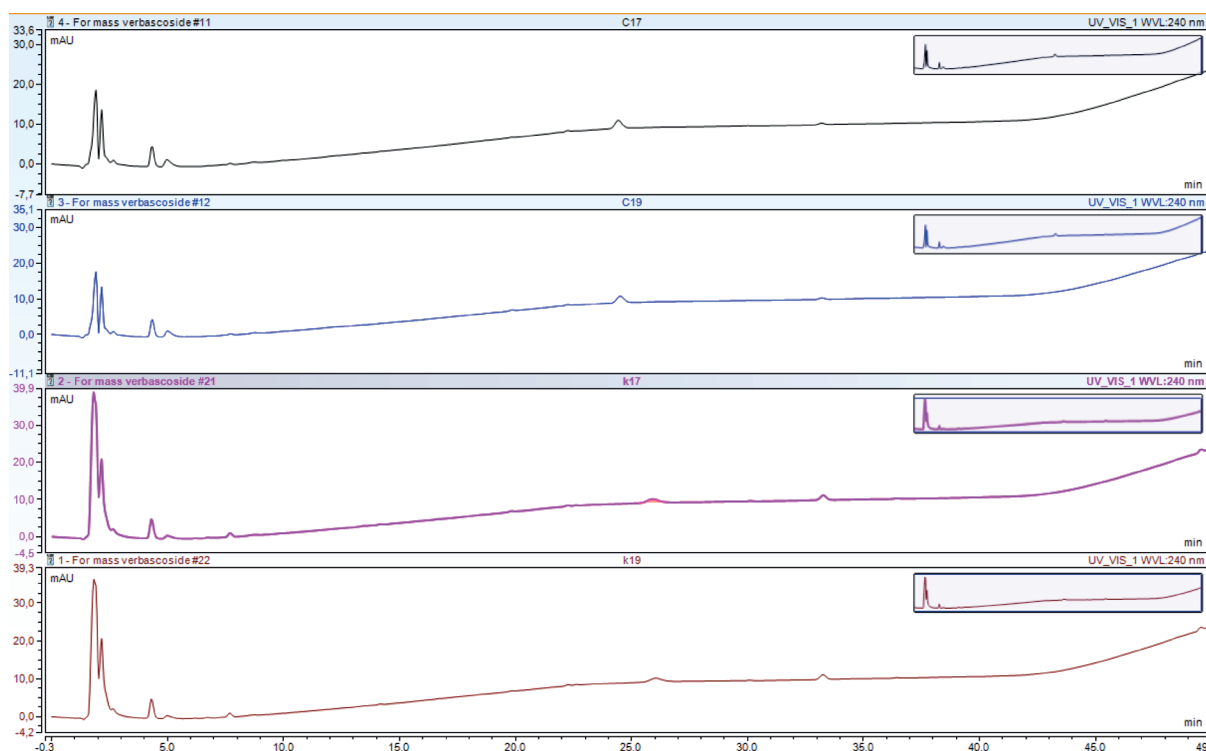


Рис. 4. Хроматограммы культуральной жидкости при добавлении экстракта *L. maculatum*, экстракта *L. maculatum* и H_2O_2 ; гомогената фибробластов при добавлении экстракта *L. maculatum*, экстракта *L. maculatum* и H_2O_2 соответственно

что мышинные фибробласты дермы поглощают пальмитиновую, стеариновую и олеиновую кислоты оливкового масла [4].

Результаты оценки влияния фитозэкстрактов растений рода *Lamium* на образование ТБК-активных продуктов. На рис. 7 и 8 представлены результаты оценки влияния кислоты аскорбиновой и экстрактов травы *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* на ПОЛ в культуральной жидкости и гомогенате фибробластов дермы человека соответственно.

Контрольная группа и эффект H_2O_2 . В контрольных пробах (без H_2O_2) средний уровень ТБК-активных продуктов составил $9,996 \times 10^{-8}$ моль/мг белка в культуральной жидкости и $3,032 \times 10^{-8}$ моль/мг белка в гомогенате. После 3-часового воздействия H_2O_2 (стресс-контроль) экстрацеллюлярный уровень ТБК повысился до $10,287 \times 10^{-8}$ моль/мг белка ($p = 0,042$), тогда как внутриклеточный показатель недостоверно снизился до $2,961 \times 10^{-8}$ моль/мг белка ($p = 0,058$). Такая картина отражает классическую реакцию фибробластов: усиленное окисление липидов с утечкой веществ перекисного окисления во внешнюю среду и частичную активацию эн-

догенных антиоксидантных механизмов внутри клетки. Известно, что H_2O_2 индуцирует окислительный стресс и в других концентрациях: так, в концентрации 50 мкМ уровень МДА в культуре легочных фибробластов человека повышался в 2,2 раза [5].

Экстракт травы *Lamium album*. При инкубации фибробластов с экстрактом травы *L. album* без индуцированного окислительного стресса наблюдалось достоверное повышение уровня ТБК-активных продуктов во внеклеточной среде до $11,310 \times 10^{-8}$ моль/мг белка (+13,2 % по сравнению с контролем; $p = 0,032$), при этом внутриклеточные значения оставались на уровне контроля. Такой профиль может указывать на защитное перераспределение антиоксидантной активности: экстракт способствует снижению внутриклеточной нагрузки за счет активации механизмов детоксикации и выведения веществ перекисного окисления во внеклеточную среду. Подобное действие может рассматриваться как элемент клеточной защиты для поддержания структурной и функциональной целостности мембран и цитозоля при отсутствии избыточного окислительного давления. При последующем воздействии H_2O_2

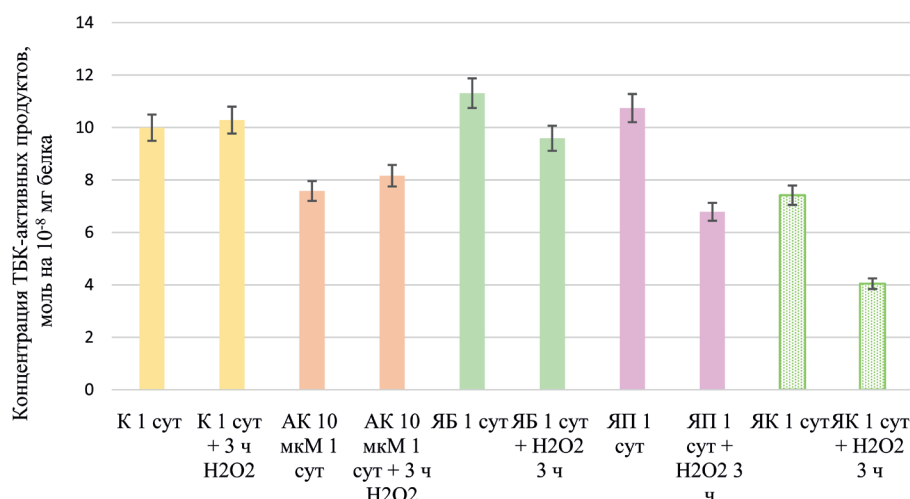


Рис. 7. Концентрации ТБК-активных продуктов в культуральной жидкости:

К 1 сут – контроль клеток без добавления H₂O₂ и экстрактов, односуточное культивирование; К 1 сут + 3 ч H₂O₂ – односуточное культивирование клеток с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч; АК 10 мкМ 1 сут – односуточное культивирование клеток с 10 мкМ аскорбиновой кислоты; АК 10 мкМ 1 сут + 3 ч H₂O₂ – односуточное культивирование клеток с 10 мкМ аскорбиновой кислоты с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч; ЯБ 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.album* в пересчете на кислоту хлорогеновую; ЯБ 1 сут + H₂O₂ 3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.album* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч; ЯП 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.purpureum* в пересчете на хлорогеновую кислоту; ЯП 1 сут + H₂O₂ 3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.purpureum* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч; ЯК 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.maculatum* в пересчете на хлорогеновую кислоту в течение 1 суток; ЯК 1 сут + H₂O₂ 3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.maculatum* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч

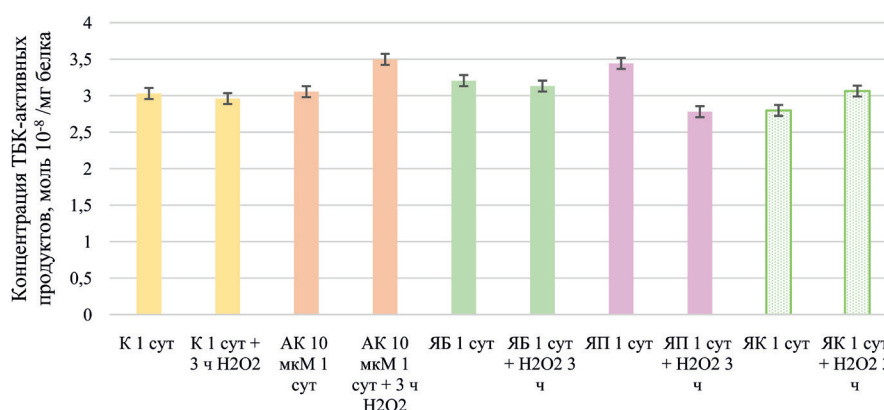


Рис. 8. Концентрации ТБК-активных продуктов в гомогенате фибробластов:

К 1 сут – контроль клеток без добавления H₂O₂ и экстрактов, односуточное культивирование; К 1 сут + 3 ч H₂O₂ – односуточное культивирование клеток с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч; АК 10 мкМ 1 сут – односуточное культивирование клеток с 10 мкМ аскорбиновой кислоты; АК 10 мкМ 1 сут + 3 ч H₂O₂ – односуточное культивирование клеток с 10 мкМ аскорбиновой кислоты с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч; ЯБ 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.album* в пересчете на кислоту хлорогеновую; ЯБ 1 сут + H₂O₂ 3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.album* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч; ЯП 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.purpureum* в пересчете на кислоту хлорогеновую; ЯП 1 сут + H₂O₂ 3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.purpureum* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч; ЯК 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.maculatum* в пересчете на хлорогеновую кислоту; ЯК 1 сут + H₂O₂ 3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.maculatum* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением H₂O₂ на 3 ч

экстракт травы *L.album* обеспечивал умеренное снижение уровня экстрацеллюлярных ТБК-активных продуктов до $9,591 \times 10^{-8}$ моль/мг белка (–6,7 % по сравнению с группой H_2O_2 ; $p = 0,046$), тогда как внутриклеточные значения сохранялись на уровне контрольных. Эти данные свидетельствуют о потенциальной способности экстракта ограничивать распространение перекисного повреждения за пределы клетки и поддерживать локальный антиоксидантный барьер. Такой тип распределения активности может иметь значение в условиях, когда избыточное перекисное окисление развивается в микроокружении тканей – например, в воспалительной или фибротической среде, характерной для ряда хронических патологий.

Экстракт *Lamium purpureum*. Инкубация фибробластов с экстрактом травы *L. purpureum* в отсутствие индуцированного стресса не вызывала изменений уровня ТБК-активных продуктов во внеклеточной среде. Незначительное повышение уровня ТБК-активных продуктов (+13,5%, $p = 0,047$) во внутриклеточной фракции на фоне отсутствия стрессовой нагрузки, вероятно, отражает активацию метаболических процессов в ответ на введение экстракта *L. purpureum*. Подобная реакция может рассматриваться как допустимый адаптационный сдвиг без признаков окислительного повреждения. При воздействии H_2O_2 экстракт травы *L.purpureum* проявил выраженные антиоксидантные свойства: содержание ТБК-активных продуктов во внеклеточной среде снизилось до $6,785 \times 10^{-8}$ моль/мг белка (–34,0 % по сравнению с группой H_2O_2 ; $p = 0,0021$), а во внутриклеточной фракции – до $2,782 \times 10^{-8}$ моль/мг белка (–6,0 % по сравнению с группой H_2O_2 ; $p = 0,044$). Результаты указывают на способность экстракта защищать клетки от ПОЛ. Предполагается, что данный эффект обусловлен высоким содержанием фенольных соединений, включая вербаскозид и кислоту хлорогеновую, обладающих способностью эффективно нейтрализовать свободные радикалы и стабилизировать мембранные структуры.

Экстракт *Lamium maculatum*. Обработка фибробластов экстрактом травы *L. maculatum* в отсутствие индуцированного окислительного стресса приводила к снижению уровня ТБК-активных продуктов во внутриклеточной фракции до $2,799 \times 10^{-8}$ моль/мг белка (–7,7 % по

сравнению с контролем; $p = 0,043$), при этом уровень внеклеточных ТБК оставался на сопоставимом с контролем уровне. Под воздействием H_2O_2 экстракт травы *L.maculatum* демонстрировал выраженный защитный эффект во внеклеточной среде: концентрация ТБК-активных продуктов снизилась до $4,046 \times 10^{-8}$ моль/мг белка (–60,6 % по сравнению с группой H_2O_2 ; $p = 0,017$). Одновременно экстракт препятствовал увеличению внутриклеточного уровня веществ ПОЛ, сохраняя стабильность мембранных структур и предотвращая окислительное повреждение.

Аскорбиновая кислота. Предварительная 24-часовая инкубация с аскорбиновой кислотой (10 мкМ) приводила к достоверному снижению внеклеточного уровня продуктов ПОЛ до $7,579 \times 10^{-8}$ моль/мг белка (–24,2 % по сравнению с контролем; $p = 0,026$), что подтверждает ее выраженную антиоксидантную активность в среде. Изменений концентрации ТБК-активных продуктов во внутриклеточной фракции не наблюдалось. После воздействия H_2O_2 внеклеточное содержание ТБК-активных продуктов оставалось сниженным ($8,164 \times 10^{-8}$ моль/мг белка; –20,6 % по сравнению с H_2O_2 ; $p = 0,033$), что указывает на способность кислоты аскорбиновой эффективно нейтрализовать свободные радикалы в окружающей среде. Одновременно наблюдалось повышение уровня МДА во внутриклеточной среде до $3,499 \times 10^{-8}$ моль/мг белка (+18,1 % к контролю; $p = 0,048$), что согласуется с данными литературы о возможной прооксидантной активности кислоты аскорбиновой в присутствии перекисей. Такой профиль может отражать направленную активность антиоксиданта преимущественно во внеклеточной среде. Кислота аскорбиновая демонстрирует способность ограничивать развитие фиброзных изменений в тканях женской половой системы, в частности снижать отложение коллагена и поддерживать морфологическую целостность эндометрия, что показано на модели опухоль-ассоциированного фиброза у мышей и рассматривается как важный механизм сохранения фертильности у женщин с онкологическими заболеваниями [1]. Поскольку фибробласты ключевые клетки стромального микроокружения, регулирующие процессы воспаления, ремоделирования и окислительного ответа, вещества, проявляющие сходное с кислотой аскорбиновой защитное действие

на фибробласты *in vitro*, как экстракты травы растений рода *Lamium*, могут потенциально оказывать положительное влияние на репаративные и антифибротические процессы в женской репродуктивной системе.

Полученные данные согласуются с результатами исследования действия в культуре фибробластов иных природных БАВ. Так, в модели УФ-индуцированного окисления дермальных фибробластов показано, что урсоловая кислота, терпеноид *Rosmarinus officinalis*, *Vaccinium oxycoccos* и др. снижает уровень МДА при предварительной инкубации в концентрации 20 мкМ [6]. Мальвидин, антоцианидин, также проявил выраженную антиоксидантную активность в условиях H_2O_2 -индуцированного стресса в клетках легочных фибробластов WI-38, снижая МДА на фоне как острого, так и хронического воздействия H_2O_2 [5]. Схожий эффект наблюдался при использовании виценина-2, содержащегося в *Artemisia capillaries*, *Urtica circularis*. Флавоноид предотвращал накопление ТБК-активных продуктов в культуре дермальных фибробластов человека после УФ-облучения, его действие по защите мембранных структур сравнивалось с действием стандартного фотозащитного агента парааминобензойной кислоты [7].

Однако важно подчеркнуть, что не все природные соединения обладают защитными свойствами. В исследовании с оливковым маслом и его компонентами, включая олеиновую кислоту и гидрокситирозол, показано, что воздействие олеиновой кислоты на дермальные фибробласты мышей вызывает повышение уровня МДА, индуцирует экспрессию провоспалительных медиаторов и сопровождается генерацией АФК. Эти эффекты нейтрализовались при введении известных антиоксидантов (α -токоферол, N-ацетил-L-цистеин), что свидетельствует о потенциально прооксидантной и повреждающей активности некоторых компонентов, несмотря на их природное происхождение [4]. Таким образом, влияние растительных метаболитов на окислительное состояние клеток может быть как защитным, так и повреждающим, в зависимости от структуры, концентрации и контекста действия.

На фоне вышеописанных работ наша модель представляет расширение подходов к оценке антиоксидантного потенциала фитосоединений. Впервые проведено исследование влияния суммарных экстрактов растений рода

Lamium на уровень ТБК-активных продуктов в культуре человеческих дермальных фибробластов, подвергшихся H_2O_2 -индуцированному стрессу. Такой подход позволяет оценить совокупный эффект комплекса БАВ, включая флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, иридоиды, потенциально действующих синергично. Дополнительным новшеством подхода стало определение уровней ТБК-активных продуктов не только внутри клеток, но и во внеклеточной среде, что позволяет учитывать и возможную секрецию веществ ПОЛ, и влияние на микроокружение. Это актуально для оценки паракринных взаимодействий клеток в условиях окислительного повреждения, например при моделировании хронического воспаления и тканевого фиброза.

Заключение. Отсутствие БАВ исследованных экстрактов в культуральной среде и клеточных гомогенатах свидетельствует о быстром захвате и полном метаболическом усвоении этих соединений фибробластами, что указывает на их высокую биодоступность и преимущественно внутриклеточный путь реализации биологической активности. Все исследованные экстракты растений рода *Lamium* продемонстрировали антиоксидантную активность, сопоставимую с эффектом аскорбиновой кислоты по снижению внеклеточного уровня продуктов ПОЛ, экстракт травы *L. maculatum* обеспечивал наиболее выраженный эффект (–60,6 %), превосходя значение, достигнутое при воздействии кислоты аскорбиновой (–20,6 %). Экстракты травы *L. purpureum* и *L. maculatum* также проявили внутриклеточную активность, снижая содержание продуктов ПОЛ в цитозоле (–6,0 и –7,7 % соответственно), в отличие от кислоты аскорбиновой, которая, напротив, вызывала его повышение (+18,1 %). Экстракт травы *L. album* оказывал умеренное антиоксидантное действие вне клетки (–6,7 %) и не влиял на внутриклеточные показатели. Учитывая отсутствие признаков цитотоксичности и хорошую переносимость всех изученных экстрактов, они могут рассматриваться как объекты, безопасные для фибробластов соединительной ткани. Данные позволяют рассматривать экстракты травы растений рода *Lamium* как потенциальные компоненты лекарственных препаратов для поддержки редокс-гомеостаза при окислительном повреждении тканей, включая воспалительные и деструктивные изменения в строме женской репродуктивной системы.

Список цитированных источников

1. Chen, H. Oxidative stress drives endometrial fibrosis via TGF- β 1/MAPK signaling pathway in breast cancer / H. Chen, M. Wang, P. Li // *The FASEB J.* – 2024. – Vol. 38, № 22. – P. e70172. – DOI: 10.1002/fasebj.202370172.
2. Fibroblasts as an experimental model system for the study of comparative physiology / C.B. Madelaire, A.C. Klink, W.J. Israelsen, A. G. Hindle // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* – 2022. – Vol. 260. – P. 110735. – DOI: 10.1016/j.cbpb.2022.110735.
3. Development and characterization of a novel immortalized human vaginal fibroblast cell line for advanced applications in reproductive health / L. C. Cheng, S. You, Th. Ren [et al.] // *Reproductive Biology and Endocrinology.* – 2025. – Vol. 23. – P. 56. – DOI: 10.1186/s12958-025-01393-0.
4. Oleic acid and hydroxytyrosol present in olive oil promote ROS and inflammatory response in normal cultures of murine dermal fibroblasts through the NF- κ B and NRF2 pathways / B. Romana-Souza, B.O. Saguie, N.P. de Almeida Nogueira [et al.] // *Food Research International.* – 2020. – Vol. 131. – P. 108984.
5. Malvidin Protects WI-38 Human Fibroblast Cells Against Stress-induced Premature Senescence / H.R. Seo, M.J. Choi, J.M. Choi [et al.] // *Journal of Cancer Prevention.* – 2016. – Vol. 21, № 1. – P. 32–40. – DOI: 10.15430/JCP.2016.21.1.32.
6. Inhibitory Effect of Ursolic Acid on Ultraviolet B Radiation-Induced Oxidative Stress and Proinflammatory Response-Mediated Senescence in Human Skin Dermal Fibroblasts / R. Samivel, R.P. Nagarajan, U. Subramanian [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2020. – Vol. 2020, № 1. – P. 1246510. – DOI: 10.1155/2020/1246510.
7. Vicenin-2 ameliorates oxidative damage and photoaging via modulation of MAPKs and MMPs signaling in UVB radiation exposed human skin cells / X. Duan, T. Wu, T. Liu [et al.] // *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology.* – 2019. – Vol. 190. – P. 76–85. – DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2018.11.018.

EVALUATION OF PROTECTIVE EFFECT OF LAMIUM PLANT EXTRACTS AGAINST OXIDATIVE STRESS IN HUMAN FIBROBLAST CULTURE

Tsiarletskaia V.A.¹, Lukashou R. I.¹, Butenko A.V.², Kvacheva Z.B.², Poleshko A.G.²

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Biophysics and Cell Technologies of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

The protective effect of *Lamium album*, *Lamium purpureum*, and *Lamium maculatum* herb extracts was compared with ascorbic acid in human dermal fibroblast cultures using a H₂O₂-induced oxidative stress model. The *Lamium* herb extracts were completely absorbed by fibroblasts, indicating high bioavailability and a predominantly intracellular mechanism of action. All studied extracts demonstrated antioxidant activity, significantly reducing the level of lipid peroxidation products in the extracellular environment, with *Lamium maculatum* herb extract providing the maximum effect (–60.6%), surpassing the effect of ascorbic acid (–20.6%). *Lamium purpureum* and *Lamium maculatum* herb extracts also exerted an intracellular antioxidant effect, reducing the level of TBA-reactive products, whereas ascorbic acid, on the contrary, induced their accumulation in the cytosol. These properties make *Lamium* plant extracts promising agents for the prevention of oxidative stress, including in the connective tissues of the female reproductive system.

Keywords: *Lamium album*; *Lamium purpureum*; *Lamium maculatum*; dermal fibroblasts; TBA-active products.