

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

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

**Терлецкая В.А.<sup>1</sup>, Лукашов Р.И.<sup>1</sup>, Бутенко А.В.<sup>2</sup>, Квачёва З.Б.<sup>2</sup>, Полешко А.Г.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь  
<sup>2</sup>ГНУ «Институт биофизики и клеточных технологий НАН Беларусь», г. Минск, Республика Беларусь

Проведено исследование протективного эффекта экстрактов травы *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lamium maculatum* в культуре дермальных фибробластов человека на модели  $\text{H}_2\text{O}_2$ -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*; фибробласти 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 фибробласти 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, ассоцииированного с гинекологической патологией [3].

Измерение уровней ТБК-активных продуктов (веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой), отражающих содержание малоносивого 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  $\text{H}_2\text{O}_2$ -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-теневой 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 °С 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 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,24 г KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Содержание фенольных соединений и кислоты хлорогеновой определяли методом высокоеффективной 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 (ДМЕМ) со средой Хэма F-12 и добавлением 2 % фетальной бычьей сыворотки) и добавляли исследуемые фитоэкстракти.

Эксперимент включал следующие группы: отрицательный контроль – клетки без дополнительного воздействия после 24 часов культивирования; положительный контроль – клетки, обработанные 200 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 этилендиаминететрауксусной 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 ДМЕМ 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 центрифugирования 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):

$$C = \frac{A}{\varepsilon \times 1 \times n} \text{ моль/мг белка,}$$

где A – оптическая плотность при  $\lambda = 532$  нм;  $\varepsilon$  – молярный коэффициент поглощения тиобарбитуровой кислоты,  $\varepsilon = 1,56 \times 10^{-5}$  моль<sup>-1</sup> × см<sup>-1</sup>; 1 – 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 C<sub>18</sub> (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 инжекции гомогената клеток или культуральной жидкости – 2 мкл. Температура колонки – 25 °C. 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

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,

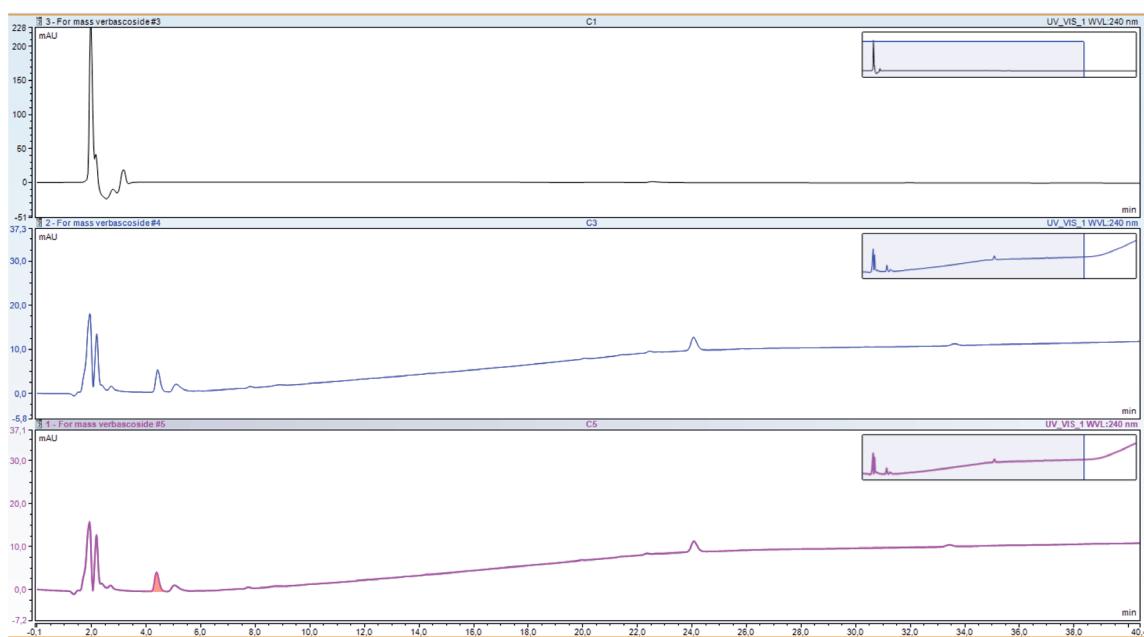


Рис. 1. Хроматограммы культуральной жидкости контрольных проб фибробластов, фибробластов с добавлением H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, фибробластов с добавлением кислоты аскорбиновой соответственно

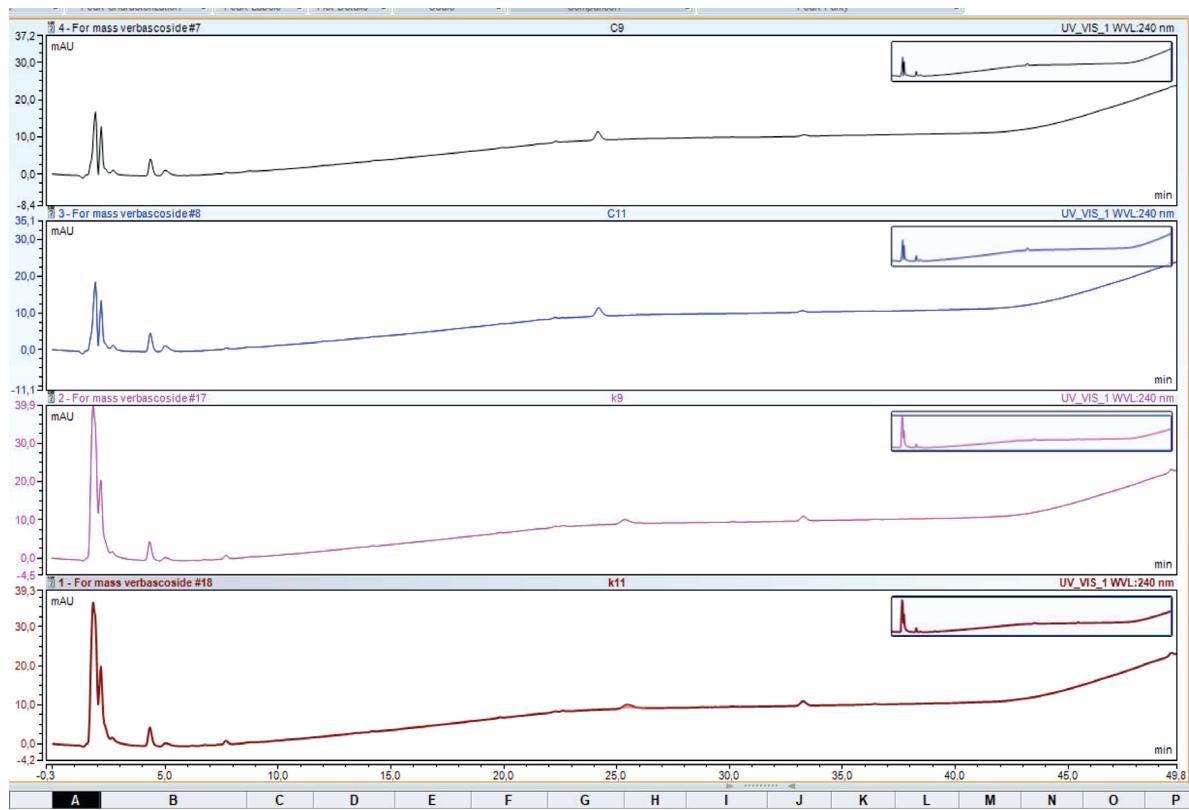


Рис. 2. Хроматограммы культуральной жидкости при добавлении экстракта *L.album*, экстракта *L.album* и  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; гомогената фибробластов при добавлении экстракта *L.album*, экстракта *L.album* и  $\text{H}_2\text{O}_2$  соответственно

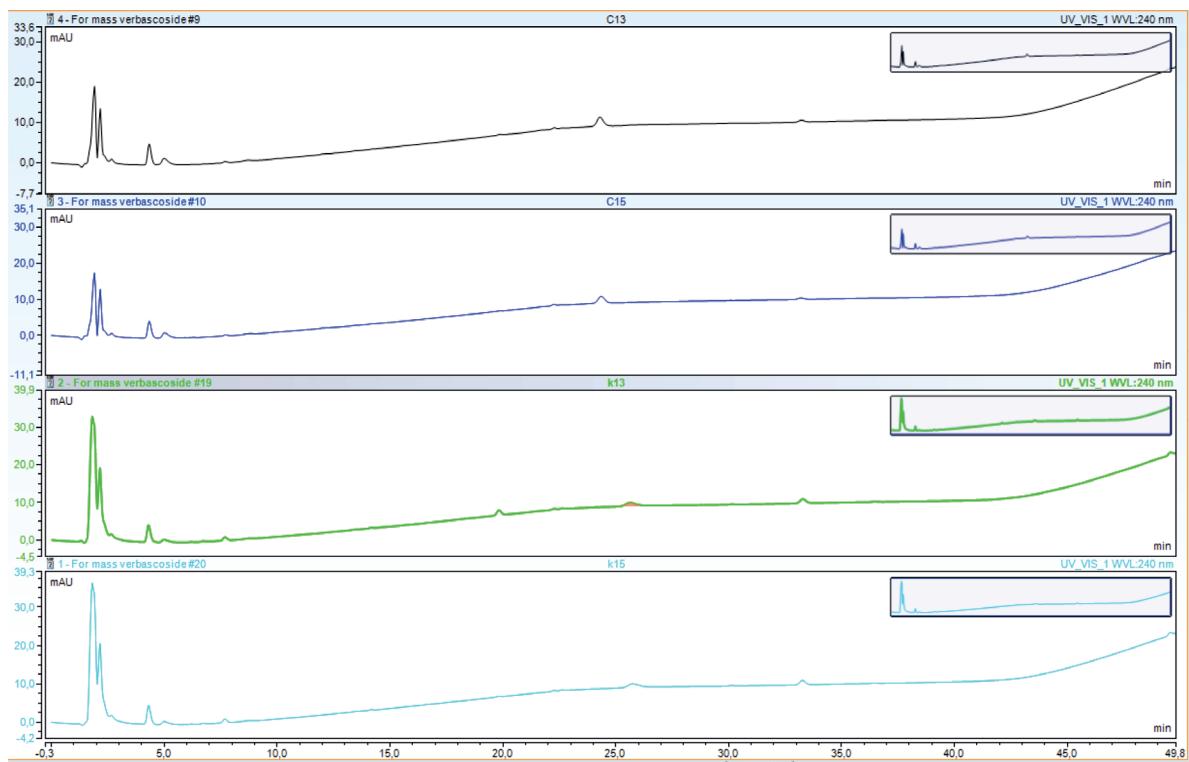


Рис. 3. Хроматограммы культуральной жидкости при добавлении экстракта *L.purpureum*, экстракта *L.purpureum* и  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; гомогената фибробластов при добавлении экстракта *L.purpureum*, экстракта *L.purpureum* и  $\text{H}_2\text{O}_2$  соответственно

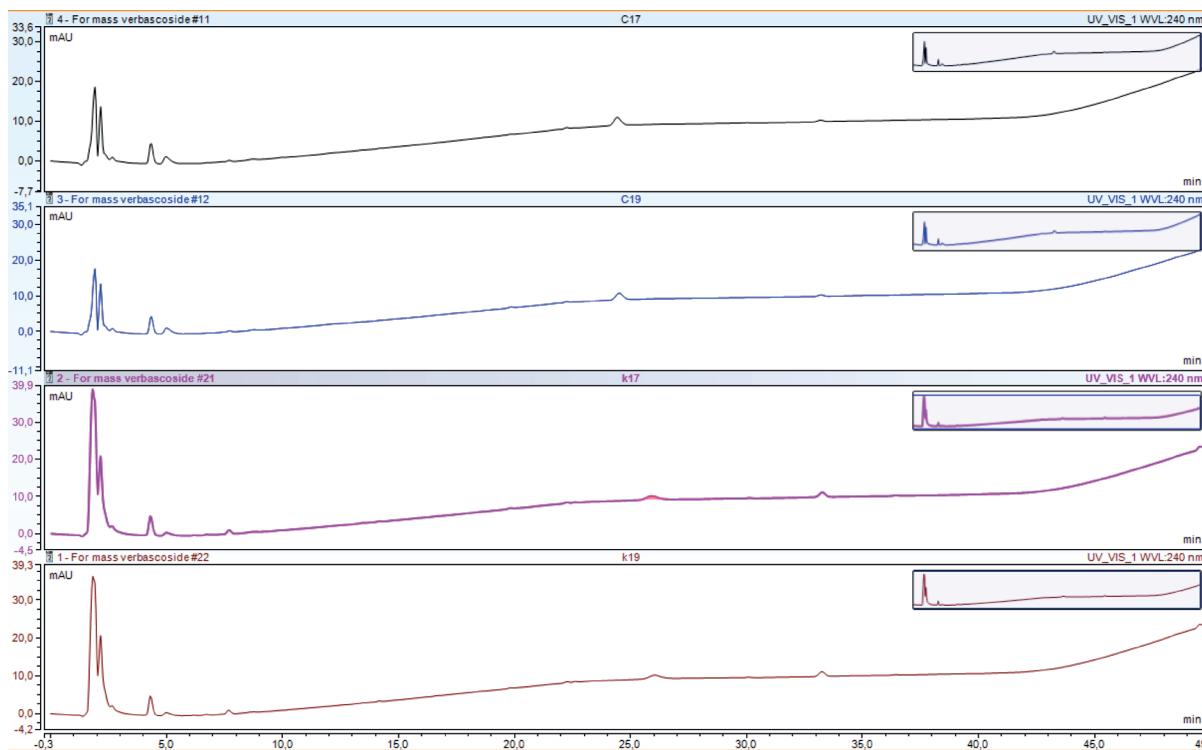


Рис. 4. Хроматограммы культуральной жидкости при добавлении экстракта *L.maculatum*, экстракта *L.maculatum* и  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; гомогената фибробластов при добавлении экстракта *L.maculatum*, экстракта *L.maculatum* и  $\text{H}_2\text{O}_2$  соответственно

что мышиные фибробlastы дермы поглощают пальмитиновую, стеариновую и олеиновую кислоты оливкового масла [4].

**Результаты оценки влияния фитоэкстрактов 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.rigideum*, *L.maculatum* на ПОЛ в культуральной жидкости и гомогенате фибробластов дермы человека соответственно.

**Контрольная группа и эффект  $\text{H}_2\text{O}_2$ .** В контрольных пробах (без  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 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  $\text{H}_2\text{O}_2$  (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  $\text{H}_2\text{O}_2$  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  $\text{H}_2\text{O}_2$

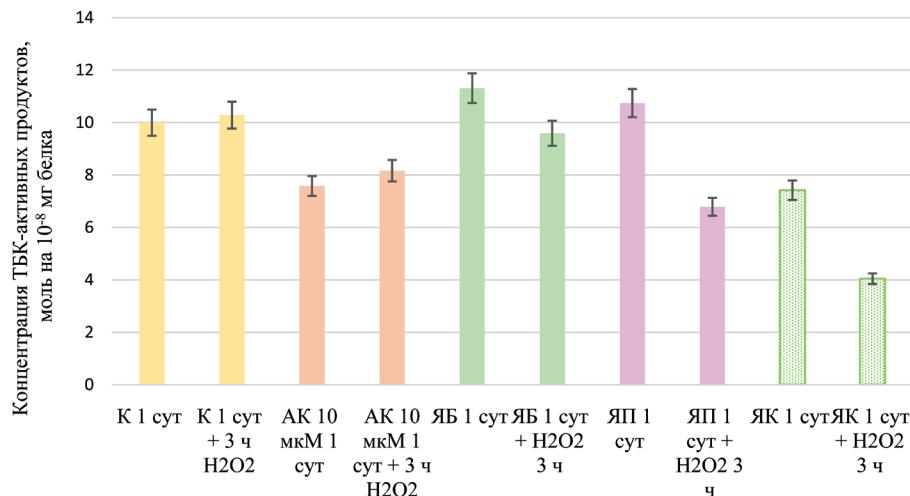


Рис. 7. Концентрации ТБК-активных продуктов в культуральной жидкости:

К 1 сут – контроль клеток без добавления  $H_2O_2$  и экстрактов, односуточное культивирование; К 1 сут + 3 ч  $H_2O_2$  – односуточное культивирование клеток с последующим добавлением  $H_2O_2$  на 3 ч; АК 10 мкМ 1 сут – односуточное культивирование клеток с 10 мкМ аскорбиновой кислоты; АК 10 мкМ 1 сут + 3 ч  $H_2O_2$  – односуточное культивирование клеток с 10 мкМ аскорбиновой кислоты с последующим добавлением  $H_2O_2$  на 3 ч; ЯБ 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.album* в пересчете на кислоту хлорогеновую; ЯБ 1 сут +  $H_2O_2$  3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.album* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением  $H_2O_2$  на 3 ч; ЯП 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.purpureum* в пересчете на хлорогеновую кислоту; ЯП 1 сут +  $H_2O_2$  3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.purpureum* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением  $H_2O_2$  на 3 ч; ЯК 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.maculatum* в пересчете на хлорогеновую кислоту; ЯК 1 сут +  $H_2O_2$  3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.maculatum* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением  $H_2O_2$  на 3 ч

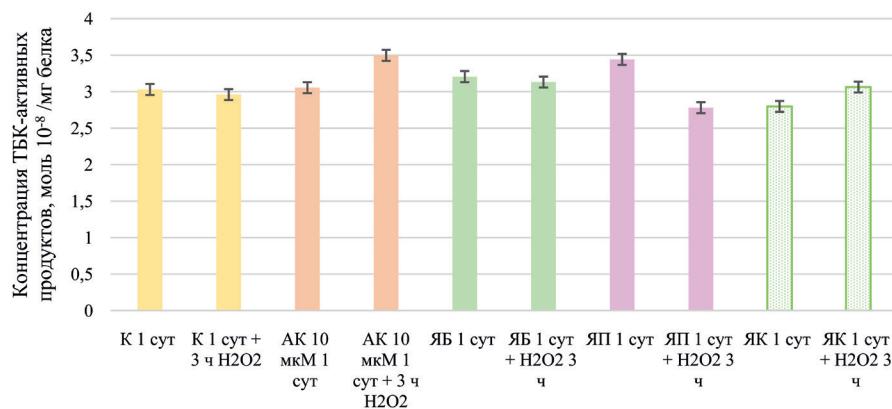


Рис. 8. Концентрации ТБК-активных продуктов в гомогенате фибробластов:

К 1 сут – контроль клеток без добавления  $H_2O_2$  и экстрактов, односуточное культивирование; К 1 сут + 3 ч  $H_2O_2$  – односуточное культивирование клеток с последующим добавлением  $H_2O_2$  на 3 ч; АК 10 мкМ 1 сут – односуточное культивирование клеток с 10 мкМ аскорбиновой кислоты; АК 10 мкМ 1 сут + 3 ч  $H_2O_2$  – односуточное культивирование клеток с 10 мкМ аскорбиновой кислоты с последующим добавлением  $H_2O_2$  на 3 ч; ЯБ 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.album* в пересчете на кислоту хлорогеновую; ЯБ 1 сут +  $H_2O_2$  3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.album* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением  $H_2O_2$  на 3 ч; ЯП 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.purpureum* в пересчете на кислоту хлорогеновую; ЯП 1 сут +  $H_2O_2$  3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.purpureum* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением  $H_2O_2$  на 3 ч; ЯК 1 сут – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.maculatum* в пересчете на хлорогеновую кислоту; ЯК 1 сут +  $H_2O_2$  3 ч – односуточное культивирование клеток с 50 мкМ экстракта травы *L.maculatum* в пересчете на кислоту хлорогеновую с последующим добавлением  $H_2O_2$  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  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;  $p = 0,046$ ), 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  $\text{H}_2\text{O}_2$  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  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;  $p = 0,0021$ ), а во внутриклеточной фракции – до  $2,782 \times 10^{-8}$  моль/мг белка ( $-6,0\%$  по сравнению с группой  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;  $p = 0,044$ ). 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  $\text{H}_2\text{O}_2$  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  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;  $p = 0,017$ ). 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  $\text{H}_2\text{O}_2$  внеклеточное содержание ТБК-активных продуктов оставалось сниженным ( $8,164 \times 10^{-8}$  моль/мг белка;  $-20,6\%$  по сравнению с  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;  $p = 0,033$ ), 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 присутствие 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 fertильности у женщин с онкологическими заболеваниями [1]. Поскольку фибробlastы 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 oxycoccus* и др. снижает уровень МДА при предварительной инкубации в концентрации 20 мкМ [6]. Мальвидин, антоцианидин, также проявил выраженную антиоксидантную активность в условиях H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированного стресса в клетках легочных фибробластов WI-38, снижая МДА на фоне как острого, так и хронического воздействия H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [5]. Схожий эффект наблюдался при использовании вице-нина-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 параминобензойной 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 фибробласти мышей вызывает повышение уровня МДА, индуцирует экспрессию провоспалительных медиаторов и сопровождается генерацией АФК. Эти эффекты нейтрализовались при введении известных антиоксидантов ( $\alpha$ -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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-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.rigurigem* 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- $\beta$ 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- $\kappa$ 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**

**Tsiarletskaya V.A.<sup>1</sup>, Lukashou R. I.<sup>1</sup>, Butenko A.V.<sup>2</sup>, Kvacheva Z.B.<sup>2</sup>, Poleshko A.G.<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

*<sup>2</sup>Institute 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-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.