

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

ННЦ «Інститут біології та медицини»  
Кафедра біохімії

Завідувач кафедри проф. Олексій САВЧУК

Протокол № \_\_\_\_ засідання кафедри

від “ \_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ р.

**ІНДУКОВАНИЙ ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС У ДРОЗОФІЛ  
ЗА ВИКОРИСТАННЯ ПОЛІФЕНОЛІВ**

Випускна кваліфікаційна робота  
студента денної форми навчання  
за спеціальністю Біологія та біохімія  
Тітової Анни Олексіївни

Науковий керівник від кафедри  
д-р біол. наук, ст. наук. співроб.  
Андрійчук Т.Р.

Робота виконана на кафедрі біохімії та біотехнології Карпатського національного університету імені Василя Стефаника під керівництвом доцента кафедри, д-ра філософії у галузі “Науки про життя” Швадчака Володимира Васильовича

Оцінка захисту роботи

---

**Київ – 2026 р.**

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АФА	– активні форми азоту;
АФК	– активні форми кисню;
ЕТЛ	– електрон-транспортний ланцюг;
ЗЗК	– запальне захворювання кишечника;
ЛОГ	– ліпоксигеназа;
МДА	– малоновий діальдегід;
МРО	– мієлопероксидази;
СОД	– супероксиддисмутаза;
ТБК	– тіобарбітурова кислота;
ЦОГ	– циклооксигеназа;
CAT	– catalase (каталаза);
4-HNE	– 4-Hydroxynonenal (4-гідроксиноненаль);
GPx	– glutathione peroxidase (глутатіонпероксидаза);
GSH	– glutathione (глутатіон);
RBS	– reactive bromine species (активні форми бром);
RCS	– reactive chlorine species (активні форми хлору);
RNS	– reactive nitrogen species (активні форми азоту);
RSS	– reactive sulfur species (активні форми сірки);
TAC	– total antioxidant capacity (загальна антиоксидантна здатність).

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b> .....	4
<b>РОЗДІЛ 1.</b> Біохімічні аспекти реалізації оксидативного стресу.....	6
1.1. Оксидативний стрес та механізми антиоксидантного захисту.....	6
1.2. Поліфеноли як біологічно активні сполуки.....	17
1.3. Менадїон як індуктор оксидативного стресу.....	20
1.4. <i>Drosophila melanogaster</i> як модельний організм для вивчення оксидативного стресу.....	21
1.5. Поліфеноли та оксидативний стрес.....	24
<b>РОЗДІЛ 2.</b> Матеріали та методи досліджень.....	28
2.1. Об'єкт дослідження та умови утримання.....	28
2.2. Схема експерименту.....	29
2.3. Методика визначення тривалості життя.....	30
2.4. Підготовка проб для біохімічного аналізу.....	30
2.5. Визначення супероксиддисмутазної активності.....	31
2.6. Визначення каталазної активності.....	33
2.7. Статистична обробка даних.....	34
<b>РОЗДІЛ 3.</b> Результати досліджень та обговорення.....	35
3.1. Вплив поліфенолів на тривалість життя та виживання <i>Drosophila melanogaster</i> за стандартних умов.....	35
3.2. Вплив поліфенолів на стійкість до менадїон-індукованого оксидативного стресу.....	41
3.2.1. Ефект попереднього споживання поліфенолів щодо активності антиоксидантних ферментів за дії менадїону.....	41
3.2.2. Ефект прямої взаємодії щодо активності антиоксидантних ферментів за одночасного споживання менадїону і поліфенолів.....	45
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	50
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	51

## ВСТУП

Оксидативний стрес є одним із ключових біохімічних механізмів пошкодження клітин, що виникає внаслідок дисбалансу між утворенням активних форм кисню (АФК) та ефективністю антиоксидантної системи організму. Надмірна генерація АФК призводить до окиснювального пошкодження ліпідів, білків і нуклеїнових кислот, що може спричиняти порушення клітинного метаболізму, прискорення процесів старіння та розвиток різних патологічних станів [1]. У зв'язку з цим значна увага сучасних біохімічних досліджень приділяється вивченню природних біологічно активних сполук, здатних впливати на процеси вільнорадикального окиснення. До таких сполук належать поліфеноли – вторинні метаболіти рослинного походження, які характеризуються вираженими антиоксидантними властивостями та здатністю модулювати активність ферментів антиоксидантної системи. Водночас встановлено, що за певних умов поліфеноли можуть проявляти також прооксидантні властивості, індукуючи розвиток оксидативного стресу [2].

Для вивчення механізмів розвитку оксидативного стресу широко використовуються модельні організми. Одним із найбільш поширених є *Drosophila melanogaster*, яка характеризується коротким життєвим циклом, добре вивченим геномом та подібністю багатьох метаболічних процесів до відповідних процесів у вищих організмів. Використання цієї моделі дає змогу досліджувати вплив різних факторів на тривалість життя, стійкість до стресових чинників та функціонування антиоксидантної системи.

З огляду на це, дослідження впливу поліфенольних сполук на розвиток оксидативного стресу та антиоксидантний захист у *Drosophila melanogaster*, зокрема за умов індукції стресу менадіоном, є актуальним і важливим для поглиблення уявлень про механізми дії природних антиоксидантів.

Метою даної роботи було оцінити вплив поліфенольних сполук на тривалість життя, стійкість до менадіон-індукованого оксидативного стресу

та активність ферментів антиоксидантного захисту у *Drosophila melanogaster*.

Відповідно до мети роботи були сформульовані наступні завдання:

1. Дослідити вплив поліфенольних сполук на тривалість життя та виживання *Drosophila melanogaster* за стандартних умов.
2. Оцінити вплив поліфенолів на стійкість *Drosophila melanogaster* до менадїон-індукованого оксидативного стресу.
3. Дослідити активність антиоксидантних ферментів за умов розвитку оксидативного стресу та вплив вживання поліфенолів під час стресу та перед ним.

У роботі досліджено вплив поліфенольних сполук на тривалість життя, стійкість до менадїон-індукованого оксидативного стресу та активність ферментів антиоксидантного захисту у *Drosophila melanogaster*. Встановлено особливості дії поліфенолів за умов попереднього споживання та їх прямої взаємодії зі стрес-індуктором. Отримані результати розширюють сучасні уявлення про роль поліфенольних сполук у регуляції прооксидантно-антиоксидантного балансу та механізмах адаптації організму до оксидативного стресу.

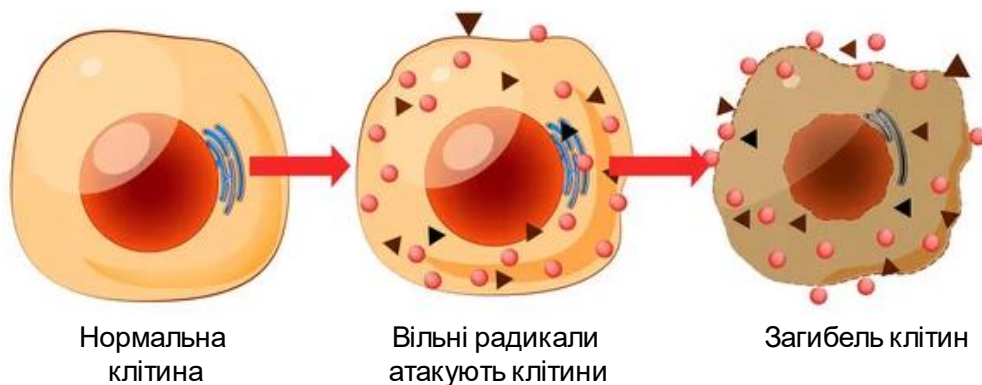
Отримані результати поглиблюють уявлення про біохімічні механізми дії поліфенольних сполук та їх вплив на антиоксидантну систему організму. Результати дослідження можуть бути використані у подальших експериментальних роботах з біохімії, а також у навчальному процесі під час викладання дисциплін з біохімії, молекулярної біології та фізіології.

## РОЗДІЛ 1

### БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ РЕАЛІЗАЦІЇ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

#### 1.1. Оксидативний стрес та механізми антиоксидантного захисту

«Оксидативний стрес» – термін, вперше запропонований у 1985 році німецьким лікарем Гельмутом Зісом [3] для позначення стану дисбалансу між утворенням оксидантів і антиоксидантним захистом, що може призводити до ушкодження біологічних систем (рис. 1.1). Ця гіпотеза стимулювала масштабні дослідження взаємозв'язку між оксидантами й антиоксидантами, їхніх джерел і метаболічних аспектів, а також їх значення для радіології, радіаційної біології, хімії, біохімії та медицини [4, 5].



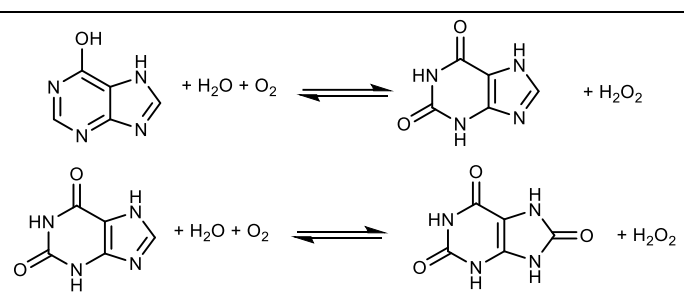
**Рис. 1.1.** Оксидативний стрес (порушення балансу між виробленням вільних радикалів та антиоксидантів) [3]

Оксидативний стрес відіграє ключову роль у клітинній фізіології, впливаючи як на нормальні біологічні процеси, так і на патогенез різних захворювань [6-12]. Він виникає внаслідок дисбалансу між утворенням активних форм кисню (АФК) та здатністю організму нейтралізувати ці реакційно здатні сполуки за допомогою антиоксидантних систем [13, 14]. АФК є різноманітною групою реакційно здатних молекул, що походять від

молекулярного кисню, і становлять важливу підгрупу активних частинок (RS). Вони утворюються внаслідок окисно-відновних реакцій або електронного збудження і характеризуються вищою реакційною здатністю порівняно з молекулярним киснем ( $O_2$ ). Внутрішньоклітинні АФК відіграють важливу роль у редокс-сигналізації та посттрансляційних модифікаціях білків, що робить їх значущими індикаторами окисативного стресу [15, 16]. АФК утворюються з молекулярного кисню внаслідок нормального клітинного метаболізму. АФК можна поділити на дві основні групи: вільні радикали та нерадикальні форми. Молекули, що містять один або кілька неспарених електронів і, відповідно, характеризуються високою реакційною здатністю, називаються вільними радикалами. Трьма основними активними формами кисню, що мають фізіологічне значення, є супероксид-аніон ( $O_2^{\cdot-}$ ), гідроксильний радикал ( $\cdot OH$ ) та пероксид водню ( $H_2O_2$ ). Основні представники ROS наведено в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

## Основні ендогенні окиснювачі [17]

Окиснювач	Формула	Рівняння реакції
Супероксидний аніон	$O_2^{\cdot-}$	$NADPH + 2O_2 \leftrightarrow NADP^+ + 2[O_2]^{\cdot-} + H^+$ $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$
Перекис водню	$H_2O_2$	 <p>The diagram shows two chemical reactions involving xanthine. The first reaction shows xanthine (a purine base with a hydroxyl group at position 6) reacting with water and oxygen to form xanthine oxidase (a purine base with a carbonyl group at position 6) and hydrogen peroxide. The second reaction shows xanthine reacting with water and oxygen to form xanthine and hydrogen peroxide.</p>
Гідроксильний радикал	$\cdot OH$	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \cdot OH$
Гіпохлорна кислота	$HOCl$	$H_2O_2 + Cl^- \rightarrow HOCl + H_2O$
Пероксильні радикали	$ROO\cdot$	$R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$
Гідропероксильні радикали	$HOO$	$[O_2]^{\cdot-} + H_2O \rightleftharpoons HOO\cdot + OH^-$

Супероксид-аніон утворюється внаслідок приєднання одного електрона до молекулярного кисню. Цей процес опосередковується ферментами нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат-оксидазою (НАДФ-оксидазою), ксантиноксидазою, а також мітохондріальною системою перенесення електронів. Основним місцем утворення супероксид-аніону є мітохондрії, які забезпечують клітину енергією шляхом синтезу аденозинтрифосфату (АТФ). У нормі електрони передаються через мітохондріальний ланцюг транспорту електронів для відновлення кисню до води. Проте приблизно 1–3 % електронів можуть виходити з цієї системи, що призводить до утворення супероксид-аніону. Фермент НАДФ-оксидаза локалізований у поліморфноядерних лейкоцитах, моноцитах і макрофагах. Під час фагоцитозу ці клітини генерують так званий «оксидативний вибух», що супроводжується інтенсивним утворенням супероксиду та забезпечує бактерицидну активність. Супероксид перетворюється на пероксид водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) під дією ферментів супероксиддисмутаза (СОД). Пероксид водню здатний легко дифундувати через плазматичну мембрану. Крім того,  $\text{H}_2\text{O}_2$  утворюється за участю ксантиноксидази, аміноксидаз та НАДФ-оксидази, а також у пероксисомах унаслідок споживання молекулярного кисню під час метаболічних реакцій. У послідовності реакцій, відомих як реакції Габера–Вайса (1.1) та Фентона (1.2),  $\text{H}_2\text{O}_2$  може розкладатися з утворенням гідроксильного радикала ( $\bullet\text{OH}$ ) у присутності іонів перехідних металів, таких як  $\text{Fe}^{2+}$  або  $\text{Cu}^+$  [17].



Супероксид-аніон  $\text{O}_2^{\bullet-}$  також може взаємодіяти з пероксидом водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) з утворенням гідроксильного радикала ( $\bullet\text{OH}$ ) [18]. Гідроксильний радикал є найбільш реакційно здатною серед активних форм кисню і може пошкоджувати білки, ліпіди, вуглеводи та ДНК. Крім того, він здатний

ініціювати процеси пероксидного окиснення ліпідів, забираючи електрон від поліненасичених жирних кислот.

Гранулоцитарні ферменти додатково підвищують реакційну здатність пероксиду водню за участю еозинофільної пероксидази та мієлопероксидази (MPO). В активованих нейтрофілах  $H_2O_2$  споживається мієлопероксидазою. У присутності іонів хлориду  $H_2O_2$  перетворюється на гіпохлоритну кислоту (HOCl). HOCl є сильним окисником і відіграє важливу роль у знищенні патогенних мікроорганізмів у дихальних шляхах [19]. Водночас HOCl може взаємодіяти з ДНК, індукуючи взаємодії між ДНК і білками, утворення продуктів окиснення піримідинових основ, а також хлорування азотистих основ ДНК [20-21]. Еозинофільна пероксидаза та мієлопероксидаза також сприяють розвитку оксидативного стресу шляхом модифікації білків, що включає галогенування, нітрування, а також утворення міжбілкових зшивок через тирозильні радикали [22-24].

Іншими вільними радикалами кисневого походження є пероксильні радикали ( $ROO^*$ ). Найпростішою формою цих радикалів є гідропероксильний радикал ( $HOO^*$ ), який відіграє важливу роль у перекисному окисненні жирних кислот. Вільні радикали можуть ініціювати ланцюгові реакції перекисного окиснення ліпідів, відщеплюючи атом водню від метиленового атома вуглецю бічного ланцюга. Утворений ліпідний радикал далі реагує з киснем з утворенням пероксильного радикала. Останній запускає ланцюгову реакцію, у результаті якої поліненасичені жирні кислоти перетворюються на ліпідні гідропероксиди. Ліпідні гідропероксиди є дуже нестабільними сполуками і легко розкладаються з утворенням вторинних продуктів, таких як альдегіди (зокрема 4-гідрокси-2,3-ноненаль) та малоновий діальдегід (МДА). Ще однією групою продуктів перекисного окиснення ліпідів є ізопростани, які утворюються внаслідок пероксидації арахідонової кислоти. Підвищені рівні ізопростанів були виявлені у плазмі крові та конденсаті видихуваного повітря у пацієнтів із бронхіальною астмою. Перекисне окиснення ліпідів порушує структурну цілісність клітинних мембран та призводить до змін

їхньої організації і структури.

Окрім АФК у внутрішньоклітинній оксидативній сигналізації та розвитку стресу беруть участь і інші реактивні форми, зокрема активні форми азоту (RNS), активні форми сірки (RSS), активні форми хлору (RCS) та активні форми бромю (RBS). Слід зазначити, що ці терміни мають узагальнюючий характер, оскільки ідентифікація окремих сполук реактивних форм часто є складним завданням [25, 26].

Деякі реактивні форми існують у формі вільних радикалів, які характеризуються наявністю одного або кількох неспарених електронів. Прикладами таких сполук є:

- а) серед АФК– супероксид-аніон ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), гідроксильний радикал ( $\bullet\text{OH}$ ), карбонатний радикал ( $\text{CO}_3^\bullet$ ), аніон-радикал діоксиду вуглецю ( $\text{CO}_2^\bullet$ ), пероксильний радикал ( $\text{ROO}\bullet$ ) та алкоксильний радикал ( $\text{RO}\bullet$ ) [27];
- б) серед RNS – оксид азоту ( $\text{NO}\bullet$ ) та діоксид азоту ( $\text{NO}_2^\bullet$ );
- в) серед RSS – сульфгідрильний радикал ( $\text{HS}\bullet$ ), тійльний радикал ( $\text{RS}\bullet$ ) та пертійльний радикал ( $\text{RSS}\bullet$ ) [28, 29];
- г) серед RCS – атом хлору ( $\text{Cl}\bullet$ ) та радикал дихлору ( $\text{Cl}_2^\bullet$ ) [30];
- д) серед RBS– атом бромю ( $\text{Br}\bullet$ ) та радикал дибромю ( $\text{Br}_2^\bullet$ ) [31].

До нерадикальних реактивних видів належать пероксид водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), органічні гідрпероксиди ( $\text{ROOH}$ ), синглетний кисень ( $^1\text{O}_2$ ), озон ( $\text{O}_3$ ), гіпобромітна кислота ( $\text{HOBr}$ ) та гіпохлоритна кислота ( $\text{HOCl}$ ) серед АФК; нітрат ( $\text{NO}_3^-$ ), нітрит ( $\text{NO}_2^-$ ), аніон нітроксилю ( $\text{NO}^-$ ), пероксинітрит ( $\text{ONOO}^-$ ) та нітрозопероксикарбонат ( $\text{ONOOCO}_2^-$ ) серед RNS, а також деякі гіпогалогеніти та більшість представників RSS.

Реакційна здатність і стабільність реактивних сполук значно варіюють. Найвищою реакційною здатністю серед них характеризується гідроксильний радикал ( $\bullet\text{OH}$ ), який здатний швидко взаємодіяти з широким спектром біомолекул. Натомість пероксид водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) є відносно стабільною сполукою. Однак при взаємодії  $\text{H}_2\text{O}_2$  з певними залишками цистеїну в білках з утворенням сульфенової кислоти константа швидкості реакції може значно

зростати. Такі сполуки, як  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  та  $\text{O}_3$ , характеризуються проміжним рівнем реакційної здатності [25].

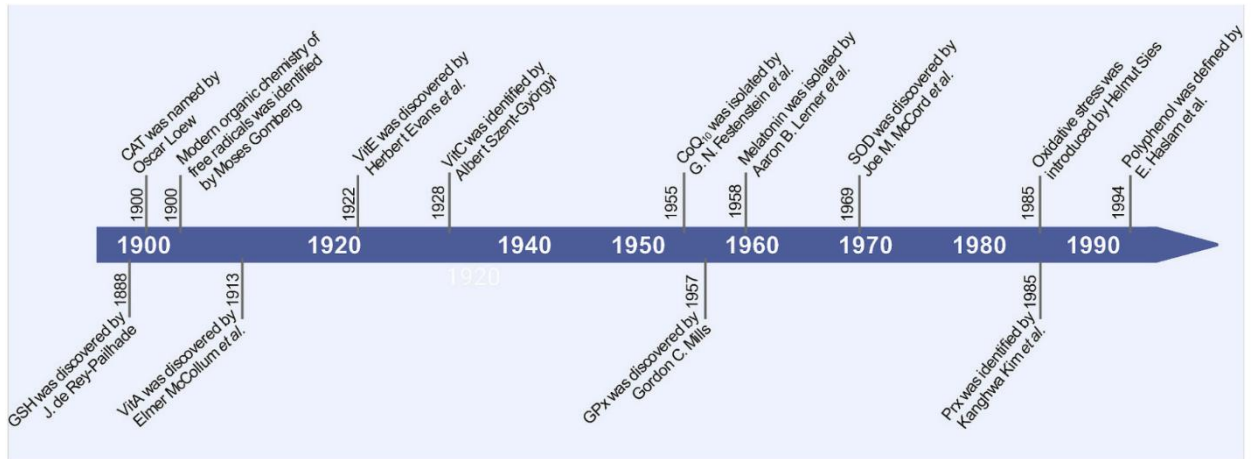
За фізіологічних концентрацій АФК виконують важливі сигнальні функції в клітині, однак їх надмірне накопичення призводить до оксидативного пошкодження клітинних компонентів, зокрема ліпідів, білків і ДНК. Такі ушкодження пов'язані з розвитком багатьох хронічних захворювань, включаючи серцево-судинні патології, нейродегенеративні розлади та онкологічні захворювання.

Хоча спочатку АФК розглядалися як шкідливі побічні продукти мітохондріального дихання, дослідження, проведені протягом останніх п'яти десятиліть, продемонстрували їхню функціональну роль у клітинних процесах. Зокрема, АФК виступають важливими сигнальними молекулами, що регулюють різноманітні клітинні сигнальні шляхи та відіграють суттєву роль у функціонуванні імунної системи.

Для протидії оксидативному стресу в біологічних системах сформувалися складні механізми антиоксидантного захисту. Антиоксиданти представляють собою молекули, які здатні нейтралізувати АФК та запобігати клітинним пошкодженням. Їх умовно поділяють на ферментативні та неферментативні. До ферментативних антиоксидантів належать супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (САТ), глутатіонпероксидази (GPx) та пероксиредоксини (Prx), тоді як до неферментативних — вітаміни (зокрема А, С та Е), глутатіон (GSH) і коензим Q10 (CoQ10) [32].

Дослідження антиоксидантів має тривалу історію та пов'язане з низкою важливих наукових відкриттів, які суттєво розширили сучасні уявлення про редокс-біологію та сформували основу для розробки терапевтичних стратегій лікування захворювань, пов'язаних з оксидативним стресом. На рис. 1.2 наведено хронологію ключових етапів у дослідженні антиоксидантів, включаючи такі знакові події, як ідентифікація каталази у 1900 році, відкриття основних антиоксидантних вітамінів (А, С і Е), а також характеристику важливих антиоксидантних ферментів, зокрема СОД, GPx і

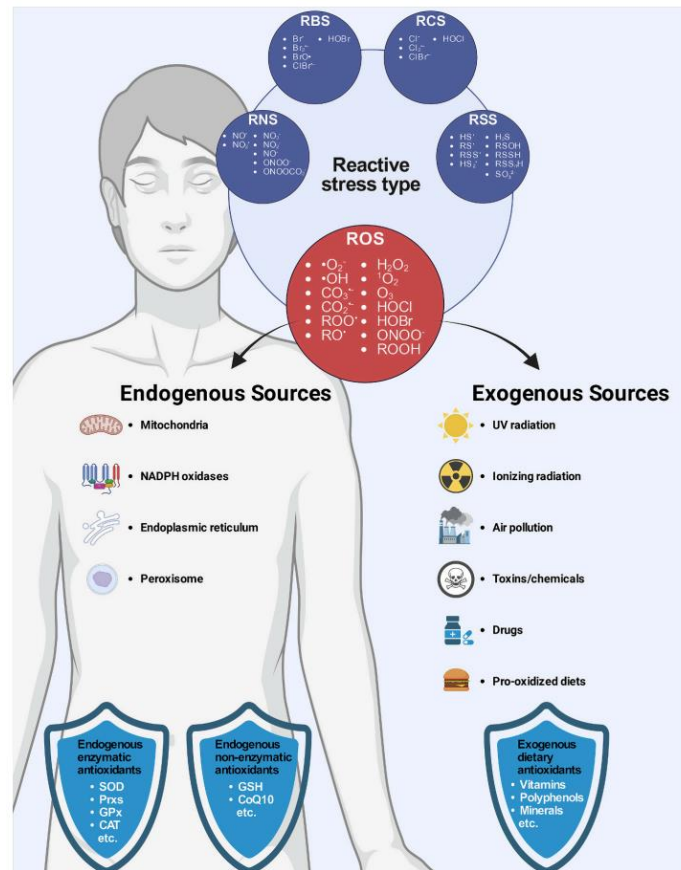
Prx). Ці відкриття забезпечили фундаментальне розуміння механізмів оксидативного стресу та антиоксидантного захисту, що створило підґрунтя для сучасних і майбутніх досліджень (рис. 1.2).



**Рис. 1.2.** Історична хронологія ключових віх в антиоксидантній системі, з висвітленням основних відкриттів, таких як супероксиддисмутаза (СОД), пероксиредоксин (Prx), глутатіонпероксидази (GPx), каталази (CAT), глутатіон (GSH), вітамін А (VitA), вітамін С (VitC), вітамін Е (VitE) та коензим Q10 (CoQ10) [14]

Як і окисники, антиоксиданти можуть утворюватися ендогенно або надходити з зовнішніх джерел. Ендогенні антиоксиданти здебільшого поділяють на ферментативні антиоксиданти та неферментативні АТФ-скевенжери (рис. 1.3). Крім того, певні молекули, такі як трансферин та альбумін, здатні секвеструвати перехідні метали, що володіють прооксидативною активністю, запобігаючи їх реакціям та утворенню окисників під час транспорту в організмі [32, 33].

Ферментативні антиоксиданти відіграють ключову роль у захисті організму від оксидативного стресу. Основними ферментативними антиоксидантами є супероксиддисмутази (СОД), пероксиредоксини (Prx), глутатіонпероксидази (GPx) та каталаза (CAT).



**Рис. 1.3.** Реактивний стрес, активні форми кисню та антиоксидантна система захисту у людини. АФК – активні форми кисню; RNS – активні форми азоту; RSS – активні форми сірки; RBS – активні форми бромю; RCS – активні форми хлору [14]

Ферментативні антиоксиданти відіграють ключову роль у захисті організму від оксидативного стресу. Основними ферментативними антиоксидантами є супероксиддисмутази (СОД), пероксиредоксини (Prx), глутатіонпероксидази (GPx) та каталаза (CAT).

СОД є головним ферментом, що підтримує нормальний рівень супероксидного радикала ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) всередині клітин. У ссавців існують три типи СОД, локалізовані в різних субклітинних компартментах:

- Cu/Zn-СОД (СОД1) — переважно в цитоплазмі, частково в міжмембранному просторі мітохондрій;
- Mn-СОД (СОД2) — переважно у матриці мітохондрій;
- EC-СОД (СОД3, екстраклітинна СОД) — єдиний тип, що присутній у

позаклітинному матриксі та біологічних рідинах.

СОД каталізує дисмутацію супероксиду, перетворюючи  $\bullet\text{O}_2^-$  на молекулярний кисень та пероксид водню ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Хоча  $\text{H}_2\text{O}_2$  є окисником, його хімічна реакційна здатність значно нижча, ніж у  $\bullet\text{O}_2^-$ , що дозволяє зменшувати рівні супероксиду всередині клітини. Крім того, СОД допомагає запобігати утворенню більш реакційного пероксинітриту ( $\text{ONOO}^-$ ), зберігаючи при цьому фізіологічно важливий  $\text{NO}\bullet$  [3, 33].

Пероксиредоксини (Prx) регулюють рівні  $\text{H}_2\text{O}_2$  у клітині, виконуючи функції пероксидаз [35]. Ці ферменти містять у своєму активному центрі залишки цистеїну, що виконують каталітичну функцію [25]. Кількість цистеїнових залишків варіює між різними Prx; найпоширенішою є дві цистеїнові групи.

Цистеїновий залишок реагує з  $\text{H}_2\text{O}_2$  з утворенням цистеїнової сульфінової кислоти (-SOH). У 2-Cys пероксиредоксинах -SOH реагує з іншим -SH залишком, утворюючи дисульфідний зв'язок, який потім відновлюється тіоредоксином (Trx). Цей процес потребує участі тіоредоксинредуктази (TrxR) [36, 37].

Глутатіонпероксидази (GPx) відновлюють  $\text{H}_2\text{O}_2$  з використанням GSH як відновника, перетворюючи  $\text{H}_2\text{O}_2$  на воду та окислюючи GSH до глутатіон дисульфіду (GSSG) [25, 38]. Сімейство GPx налічує вісім основних ізоформ у ссавців (GPx1–GPx8), кожна з яких має тканинно- та клітинно-специфічну експресію. Серед них GPx4 (фосфоліпід-гідропероксидазна глутатіонпероксидаза, PHGPx) є ключовою у регуляції перекисного окиснення ліпідів [39].

Каталаза (CAT) безпосередньо каталізує розклад  $\text{H}_2\text{O}_2$  на воду та кисень, відіграючи центральну роль у пом'якшенні оксидативного стресу [40, 41]. CAT присутня у всіх органах, з найбільш високою концентрацією у печінці ссавців. Залізовмісні гемові групи в активному центрі субодиниці CAT є ключовими для її каталізу [25, 42 - 44].

Неферментативні АТФ-скевенжери відіграють важливу роль в

антиоксидантному захисті організму, виступаючи як так звані «жертвенні агенти». Вони реагують з окисниками, запобігаючи ушкодженню більш критично важливих молекул.

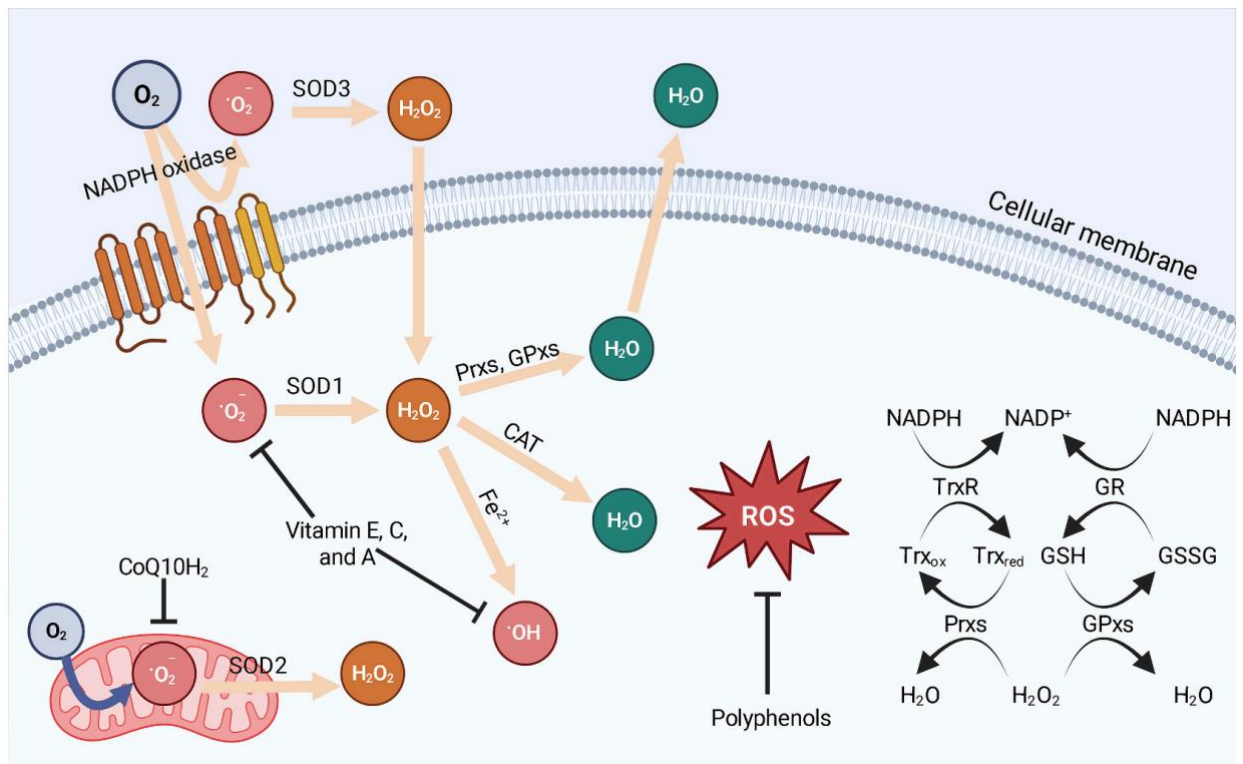
Глутатіон (GSH) є основним компонентом неферментативних АТФ-скевенжерів. Він синтезується в цитоплазмі всіх клітин тварин і може транспортуватися до мітохондрій та ядра. Крім того, що GSH виступає відновником для GPx, дозволяючи видаляти пероксид водню, він також може безпосередньо реагувати з різними окисниками, такими як ONOON, HOCl та •OH. Завдяки відносно високій концентрації в клітинах (мілімолярні рівні), GSH ефективно нейтралізує окисники.

Окиснений глутатіон (GSSG) може бути відновлений назад до активної форми за допомогою глутатіонредуктази (GR) з використанням НАДФ як донора електронів, що дозволяє підтримувати високе співвідношення GSH:GSSG у клітинах (рис. 1.4) [25, 44 - 47].

Окрім GSH, важливу антиоксидантну роль відіграють інші молекули, такі як коензим Q10 (CoQ10, убіхінон), плазмалогени та урати. CoQ10 може відновлюватися до своєї антиоксидантної форми — убіхінолу (CoQ10H<sub>2</sub>). Убіхінол ефективно нейтралізує вільні радикали, запобігаючи перекисному окисненню ліпідів, інгібує фероптоз та захищає клітини від оксидативного пошкодження [48].

Плазмалогени містять вініловий ефірний зв'язок, який здатен захоплювати та нейтралізувати вільні радикали, запобігаючи ліпідній пероксидації в клітинних мембранах та підтримуючи цілісність і функціонування мембран [49, 50].

Урат, кінцевий продукт пуринового обміну, не лише нейтралізує активні форми кисню, а й взаємодіє з іншими антиоксидантними системами, такими як СОД та аскорбінова кислота, посилюючи загальний антиоксидантний ефект [51, 25].



**Рис. 1.4.** Антиоксидантні системи захисту організму. Активні форми кисню, такі як супероксидний аніон ( $\cdot O_2^-$ ), перексид водню ( $H_2O_2$ ) та гідроксильні радикали ( $\cdot OH$ ), утворюються в мітохондріях та на клітинній мембрані, переважно за участю НАДФ-оксидази та електронно-транспортного ланцюга. Супероксиддисмутази (СОД1–3) перетворюють  $\cdot O_2^-$  у  $H_2O_2$ , який подальше детоксикується каталазою (CAT), глутатіонпероксидазами (GPx) та пероксиредоксинами (Prx) [14]

Крім того, через прооксидативні властивості заліза, міді, гемму та гемовмісних білків, в організмі синтезуються певні ендогенні молекули, які здатні зберігати ці іони або утримувати їх у неактивній формі, мінімізуючи утворення АФК та забезпечуючи їх безпечний транспорт. Наприклад, трансферин та лактоферин зв'язують залізо, альбумін зв'язує  $Cu^{2+}$ , а гаптоглобін — гемоглобін/гем [25].

До переваг досліджень оксидативного стресу належить інтеграція фундаментальних положень хімії, пов'язаних з окисно-відновними реакціями (зокрема перенесення електронів, вільні радикали, кисневі метаболіти, такі як

$\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}\cdot$ ,  $[\text{O}]$ , вільні радикали  $\text{NO}$  та  $\text{NO}_3^-$ ), із біологічними концепціями [52]. Водночас у багатьох наукових публікаціях використовується узагальнений термін АФК без конкретизації типу окисника. З огляду на це доцільно чітко визначати, обговорювати й аналізувати конкретну хімічну природу окиснювального агента, а не обмежуватися загальним терміном АФК [53, 54].

Однією з методологічних пасток досліджень оксидативного стресу є підхід «one-size-fits-all» («універсальний підхід»), зокрема вимірювання загальної антиоксидантної здатності (ТАС). Цей показник широко застосовується в літературі, однак він не надає достатньо інформативних даних щодо стану організму за умов оксидативного стресу. Натомість більш доцільним є визначення активності конкретних антиоксидантних ферментів або аналіз профілю антиоксидантної системи [55].

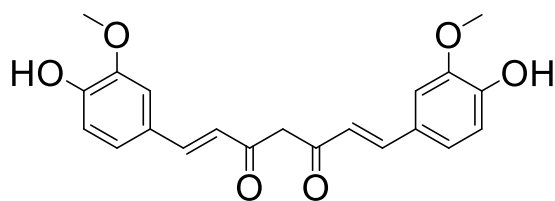
## 1.2. Поліфеноли як біологічно активні сполуки

Поліфеноли – це група хімічних сполук, що переважно синтезуються в рослинах як вторинні метаболіти та структурно характеризуються наявністю однієї або кількох гідроксильних груп ( $-\text{OH}$ ), зв'язаних із фенольними кільцями [56]. Вони є невід'ємними компонентами фізіологічних процесів у рослин і беруть участь у формуванні захисних механізмів проти різних видів стресу, зокрема водного та світлового. Поліфеноли широко поширені в природі та характеризуються надзвичайною структурною різноманітністю. Вони присутні у плодах, листках, стеблах, коренях та насінні, і на сьогодні ідентифіковано понад 8000 різних поліфенольних сполук [57]. У зв'язку з цим їхня термінологія та класифікація є складними та багатокомпонентними. За особливостями хімічної структури поліфеноли поділяють на фенольні кислоти, стилбени, фенольні спирти, лігнани та флавоноїди [58].

Усі фенольні сполуки характеризуються інтенсивним поглинанням у

УФ-ділянці спектра, а забарвлені сполуки також проявляють сильне поглинання у видимій області. Кожний клас фенольних сполук має характерні спектральні особливості поглинання [59]. Зокрема, феноли та фенольні кислоти мають спектральні максимуми в діапазоні 250–290 нм; похідні коричної кислоти – основні максимуми в межах 290–330 нм; флаволи та флавоноли характеризуються смугами поглинання приблизно однакової інтенсивності при близько 250 і 350 нм. Для халконів і ауронів характерний інтенсивний максимум поглинання вище 350 нм та значно менш інтенсивна смуга поблизу 250 нм. Антоціани та бетаціаніни демонструють подібні спектри поглинання у видимій області (475-560 нм та 535-545 нм відповідно), а також додатковий максимум близько 270-275 нм [60].

Куркумін (рис. 1.5), основний куркуміноїд, отриманий з *Curcuma longa* (куркума), є широко вивченим поліфенолом, відомим своїми сильними протизапальними та антиоксидантними властивостями [61-62]. Механічно куркумін відновлює окисно-відновний гомеостаз, безпосередньо поглинаючи АФК, активуючи шлях Nrf2, посилюючи антиоксидантні ферменти, такі як гемоксигеназа 1 (HO-1), СОД, САТ і GPx, і пригнічуючи передачу сигналів NF-κB разом із пов'язаними медіаторами запалення [63]. Нещодавній систематичний огляд також підтвердив ефективність куркуміну у сприянні клінічній ремісії та відповіді у пацієнтів із запальним захворюванням кишечника (ЗЗК) [64].



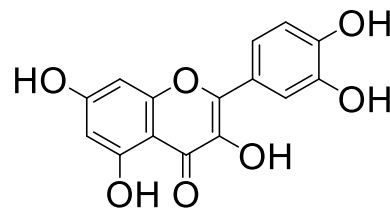
**Рис. 1.5.** Структурна формула куркуміну

Зростаюча кількість доклінічних доказів показує, що куркумін захищає від ЗЗК не тільки шляхом зменшення запалення, але й шляхом модуляції окисно-відновних шляхів. Він послаблює окислювальний стрес шляхом

поглинання АФК і посилення ендogenous антиоксидантного захисту. Наприклад, [65] розробили реагуючі на АФК наночастинки полі(диселенід-оксалат-куркумін), які доставляли куркумін спеціально до запаленої тканини товстої кишки при коліті, спричиненому сульфатом натрію декстрану, де він знижував вироблення АФК і оксиду азоту (NO), покращуючи гістологічні результати.

Куркумін також підвищує активність антиоксидантних ферментів, допомагаючи відновити окисно-відновний гомеостаз. Ці ефекти включають знижені рівні маркерів окисного стресу, таких як малоновий діальдегід (МДА), NO, мієлопероксидаза (МРО) і 4-гідроксиноненал (4-HNE), а також підвищені рівні СОД, САТ, глутатіону (GSH) і GPx. Наприклад, наночастинки MPDA@Cur-міток знижують перекисне окиснення ліпідів і підвищують активність СОД і САТ при DSS-індукованому коліті. Інші склади, як-от екзосомоподібні нановезикули, отримані з куркуми, підвищували регуляцію HO-1 і знижували рівні МРО та цитокінів [66, 67].

Кверцетин (рис. 1.6) є широко поширеним флавоноїдом, відомим своїми сильними антиоксидантними та протизапальними властивостями.



**Рис. 1.6.** Структурна формула кверцетину

При ЗЗК кверцетин надає захисну дію, модулюючи окислювальний стрес і відновлюючи окисно-відновний гомеостаз [68, 69]. У моделі коліту, спричиненого 2, 4, 6-тринітробензолсульфоною кислотою, він значно знижував маркери окисного стресу, одночасно збільшуючи ТАС. Це супроводжувалося зниженням стресу ендоплазматичного ретикулуму, апоптозом та активацією ядерного транскрипційного фактора NF-κB [70].

При DSS-індукованому коліті наночастинки, навантажені кверцетином, знижували АФК,  $H_2O_2$  і МДА, а також посилювали регуляцію ключових антиоксидантних ферментів, включаючи СОД, САТ, GPx і ТАС. Лікування також активувало шлях Nrf2/HO-1 і пригнічувало прооксидантні ферменти, такі як iNOS і ЦОГ-2, що призводило до зменшення запалення та покращення бар'єрної функції слизової оболонки [71]. Крім того, було показано, що АФК- і рН-чутливі кверцетин-кон'юговані міцели накопичуються в запаленій тканині товстої кишки і ефективно пригнічують АФК, TNF- $\alpha$ , IL-6 та iNOS, демонструючи цілеспрямоване окисно-відновне втручання [72]. Разом ці дослідження підтверджують здатність кверцетину полегшувати ЗЗК шляхом боротьби з окислювальним стресом, посилення антиоксидантного захисту та збереження цілісності епітелію.

### 1.3. Менадіон як індуктор оксидативного стресу

Менадіон (2-метил-1,4-нафтохінон) є генератором  $O_2^{\cdot-}$  завдяки своїй розчинності у воді та легкості дифузії. Він генерує АФК шляхом відновлення одноелектронного хінону до семіхінону. Потім семіхінон автоокиснюється до хінону в аеробних умовах. Побічним продуктом цієї реакції є  $O_2^{\cdot-}$ . У біологічних системах хінони зазвичай відновлюються коферментом НАДФН у присутності клітинних редуктаз, включаючи НАДН-убіхінон-оксидазу, НАДН-цитохром  $b^5$  - редуктазу та НАДФН-цитохром Р-450-редуктазу. Тому ці три редуктази вважають відповідальними за генерацію АФК менадіоном [71].

Менадіон (вітамін  $K_3$ ) широко застосовується в біохімічних дослідженнях як прооксидантний агент для індукції оксидативного стресу в клітинних та *in vivo* моделях. Його редокс-циклічні властивості сприяють утворенню АФК, включно з супероксид-аніонами ( $O_2^{\cdot-}$ ), пероксидом водню

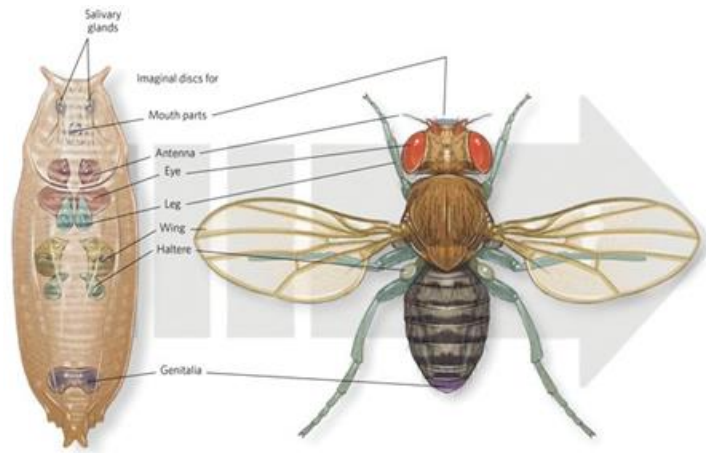
(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) та гідроксильними радикалами (•ОН), здебільшого через взаємодію з компонентами мітохондріального електронного транспортного ланцюга та цитозольними ферментами, такими як НАДФН-залежні хінонредуктази. Накопичення АФК призводить до оксидативних модифікацій ліпідів, білків і нуклеїнових кислот, порушуючи клітинний редокс-гомеостаз.

Таким чином, оксидативний стрес, індукований менадіоном, є цінним експериментальним інструментом для вивчення механізмів систем антиоксидантного захисту, включно з активністю супероксиддисмутази, каталази та глутатіон-залежних ферментів, а також для дослідження молекулярних шляхів, що лежать в основі оксидативних ушкоджень, клітинної сигналізації та апоптозу.

#### **1.4. *Drosophila melanogaster* як модельний організм для вивчення оксидативного стресу**

*Drosophila melanogaster*, відома як плодова або оцтова муха, є представником ряду Двокрилих (*Diptera*) родини *Drosophilidae*. У природних умовах поширені особини дикого типу (wild type), які характеризуються червоним забарвленням очей та жовто-коричневим кольором тіла з поперечними чорними смужками на черевці (рис. 1.7). Для представників виду *D. melanogaster* характерний виражений статевий диморфізм: самки, як правило, більші за самців; їхнє черевце має більш загострену форму та світліше забарвлення на кінці, тоді як у самців черевце коротше, більш округле і темніше на кінці.

Плодова мушка *Drosophila melanogaster* протягом понад століття залишається важливим модельним об'єктом біологічних досліджень. Як модельна система, дрозофіла є складним багатоклітинним організмом, у якому багато аспектів розвитку, метаболізму та поведінки мають значну подібність до відповідних процесів у людини [73].



**Рис. 1.7.** Будова плодової мушки [Wikipedia]

*D. melanogaster* широко використовують у біомедичних дослідженнях [74], а також у галузях генетики, імунології та фізіології. Це зумовлено низкою біологічних та експериментальних переваг даного модельного організму, зокрема:

- 1) короткий життєвий цикл порівняно з лабораторними ссавцями (щурами та мишами);
- 2) ембріональний розвиток поза тілом самки, що дає змогу безпосередньо спостерігати за ембріогенезом на різних стадіях розвитку;
- 3) висока плодючість: одна самка здатна відкласти сотні запліднених яєць, що забезпечує репрезентативність вибірок і полегшує статистичний аналіз;
- 4) відносно невеликий розмір геному (менший ніж одна десята геному щура);
- 5) можливість індукції та спрямованого вивчення мутацій окремих генів.

Особливе місце плодова мушка посідає у дослідженнях у галузі генетики. Значна частина фундаментальних уявлень про природу гена, генетичне зчеплення, сегрегацію хромосом під час мітозу та мейозу, механізми мутагенезу і рекомбінації, генетичну нестабільність та мікроеволюційні процеси в популяціях сформована на основі експериментів з

*Drosophila melanogaster*. Низка важливих теоретичних проблем генетики – штучне отримання мутацій і вивчення природи гена, механізми визначення статі та локалізація статевих факторів у хромосомах, а також питання популяційної генетики наразі інтенсивно досліджуються на цій модельній системі. Отримані результати мають важливе значення не лише для розвитку генетики, а й для поглиблення загальних уявлень про біологію організмів та еволюційні процеси.

Багаторічні дослідження з використанням плодової мушки сприяли суттєвому прогресу у розумінні центральних і периферичних регуляторних механізмів, що лежать в основі розвитку тваринних організмів. У ході цих досліджень було ідентифіковано низку сигнальних шляхів, такі як Notch, Wnt та hedgehog, порушення функціонування яких нині вважають важливим чинником розвитку багатьох поширених захворювань людини, зокрема онкологічних, серцево-судинних і неврологічних патологій [75].

Після повного секвенування геномів плодової мушки та людини було встановлено значну генетичну подібність між ними. Близько 70 % генів *Drosophila melanogaster* мають гомологи у геномі людини. Крім того, приблизно 64 % відомих на сьогодні генів, пов'язаних із розвитком захворювань людини, мають відповідники у геномі дрозофіли, а близько 50 % амінокислотних послідовностей є подібними до таких у ссавців [76]. Завдяки цій генетичній подібності *Drosophila melanogaster* широко застосовується для моделювання різних патологічних станів людини, серед яких хвороби Паркінсона, Гантінгтона та Альцгеймера.

Дослідження з використанням *Drosophila melanogaster* відіграють важливу роль у вивченні фундаментальних біологічних процесів, пов'язаних зі здоров'ям людини. До таких процесів належать васкулогенез, механізми вродженого імунітету, підтримання та диференціація стовбурових клітин, формування клітинної і тканинної полярності, регуляція росту, морфогенез, а також процеси навчання, пам'яті та регуляції тривалості життя. Також плодову мушку широко використовують як модельний організм для

дослідження молекулярних і клітинних механізмів розвитку різних патологічних станів, в т.ч. порушень імунної відповіді, цукрового діабету, онкологічних захворювань та наркотичної залежності.

*Drosophila* характеризується відносно коротким життєвим циклом. Самець і самка здатні продукувати сотні генетично подібного потомства приблизно через 10 днів при температурі 25 °С, що значно швидше порівняно з часто використовуваними модельними організмами серед гризунів. Тривалість життєвого циклу дрозофіли залежить від температури середовища, в якому відбувається розвиток. При оптимальній температурі 25 °С тривалість окремих стадій розвитку становить:

- ембріональна стадія – близько 24-25 год;
- личинковий період – приблизно 4-5 діб;
- стадія лялечки – 3-4 доби.

Однією з ключових переваг плодової мушки як лабораторного модельного організму є можливість регулювання температури, вологості та фотоперіоду, що дозволяє оптимізувати тривалість життєвого циклу та отримати велику кількість біологічного матеріалу для досліджень. На відміну від мишей, утримання дрозофіл та отримання нового покоління є економічно вигідним, що робить їх доступними для використання у навчально-дослідницьких лабораторіях навіть за обмеженого фінансування.

## 1.5. Поліфеноли та оксидативний стрес

Антиоксидантні властивості поліфенолів. Надмірна продукція АФК може спричиняти ушкодження тканин, що, своєю чергою, ініціює розвиток запального процесу [77]. Антиоксидантна активність поліфенолів залежить від структури їх функціональних груп. Кількість гідроксильних груп суттєво впливає на реалізацію механізмів антиоксидантної дії, зокрема на здатність до нейтралізації вільних радикалів і хелатування іонів металів [78].

Антиоксидантні властивості поліфенолів пов'язані з їх здатністю інактивувати широкий спектр АФК. Механізми, що забезпечують антиоксидантний потенціал поліфенолів, включають пригнічення утворення АФК шляхом інгібування ферментів, залучених до їх генерації, безпосереднє зв'язування (scavenging) активних форм кисню, а також підвищення активності або захист ендогенних антиоксидантних систем.

Поліфеноли можуть знижувати каталітичну активність ферментів, відповідальних за утворення АФК. Захист від оксидативного ушкодження реалізується через різні механізми [79]. Відомо, що утворення АФК може посилюватися за наявності вільних іонів металів унаслідок відновлення пероксиду водню з утворенням високо реактивного гідроксильного радикала. Поліфеноли, завдяки нижчому редокс-потенціалу, термодинамічно здатні відновлювати сильні окисники — вільні радикали — через хелатування іонів металів (заліза, міді тощо) та взаємодію з вільними радикалами [80]. Зокрема, кверцетин проявляє виражені властивості хелатування та стабілізації іонів заліза.

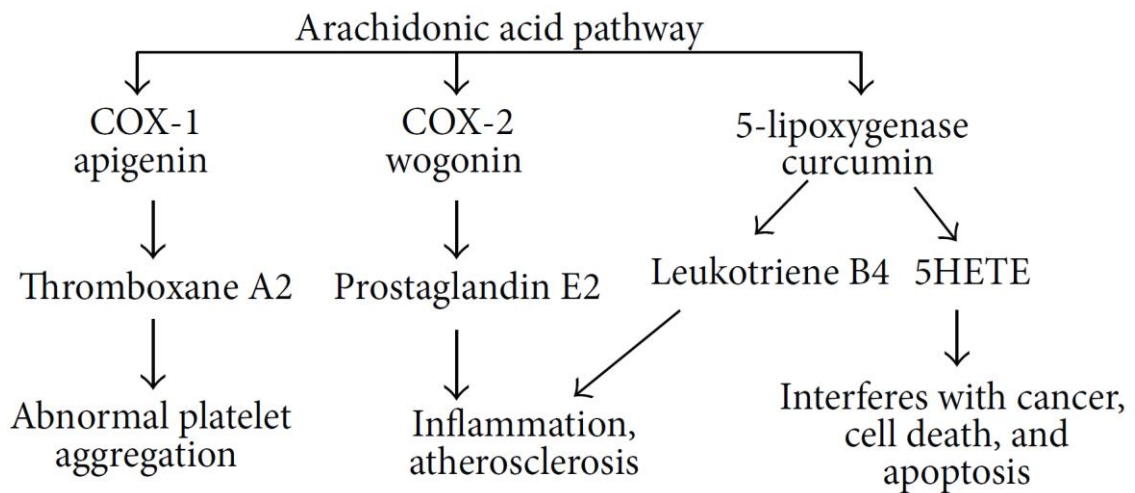
Взаємодія вільних радикалів із поліфенолами. Поліфеноли здатні взаємодіяти в плазматичній мембрані з неполярними сполуками, локалізованими у гідрофобному внутрішньому шарі мембрани. Такі зміни можуть впливати на швидкість окиснення ліпідів або білків. Деякі флавоноїди, інтегровані в гідрофобне ядро мембрани, здатні обмежувати доступ окисників, тим самим зберігаючи структурну цілісність і функціональну активність мембран [81]. Зазначені процеси сприяють кращому розумінню базових механізмів дії поліфенолів, включно з їх клітинними взаємодіями та участю в сигнальній трансдукції.

Взаємодія поліфенолів із ферментами родини NO-синтаз може модулювати продукцію оксиду азоту (NO). Ксантинооксидаза розглядається як ключове джерело вільних радикалів, і доведено, що окремі флавоноїди, зокрема кверцетин, силібін і лютеолін, здатні інгібувати її активність. Флавоноїди також можуть знижувати активність пероксидаз і пригнічувати

вивільнення вільних радикалів нейтрофілами, а також їх активацію за участю  $\alpha 1$ -антитрипсину [82].

Інгібування ферментів, залучених до окиснення. Різні дослідження показали, що поліфеноли здатні модулювати активність ферментів, що метаболізують арахідонову кислоту, таких як циклооксигеназа ЦОГ, ліпоксигеназа (ЛОГ) та NO-синтази [83]. Інгібування цих ферментів призводить до зниження продукції арахідонової кислоти, простагландинів, лейкотрієнів та оксиду азоту (NO), які є ключовими медіаторами запалення. Шлях арахідонової кислоти у процесі запалення представлено на рис. 1.7.

Бактеріальні ендотоксини та прозапальні цитокіни можуть стимулювати макрофаги, що призводить до підвищеної експресії iNOS, збільшення продукції NO та подальшого окисного ушкодження. Поліфеноли здатні пригнічувати експресію гена iNOS, індуковану LPS, та її активність у культурі макрофагів [85], що зменшує окисне ушкодження.



**Рис. 1.7.** Метаболічні шляхи, що беруть участь у перетвореннях арахідонової кислоти та призводять до запальних захворювань [84]

ЦОГ та LOX є ферментативними активностями, відповідальними за утворення метаболітів, здатних посилювати окисне ураження тканин. Деякі поліфеноли володіють властивостями інгібувати активність ЦОГ та LOX [86]. Окисне ушкодження тканин може погіршуватися метаболітами, особливо

тими, що утворюються в шляху ксантинооксидази. Активність ксантиндегідрогенази (XDH) може перетворюватися на активність ксантинооксидази під час ішемії, що призводить до підвищеної продукції ROS. Було показано, що поліфеноли зменшують окисне ушкодження, знижуючи активність ксантинооксидази [87].

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Об'єкт дослідження та умови утримання

У дослідженні використовували імаго *Drosophila melanogaster* лінії Canton-S. Лінію мух було отримано з Блумінгтонського стокового центру (Bloomington Drosophila Stock Center, Університет Індіани, США).

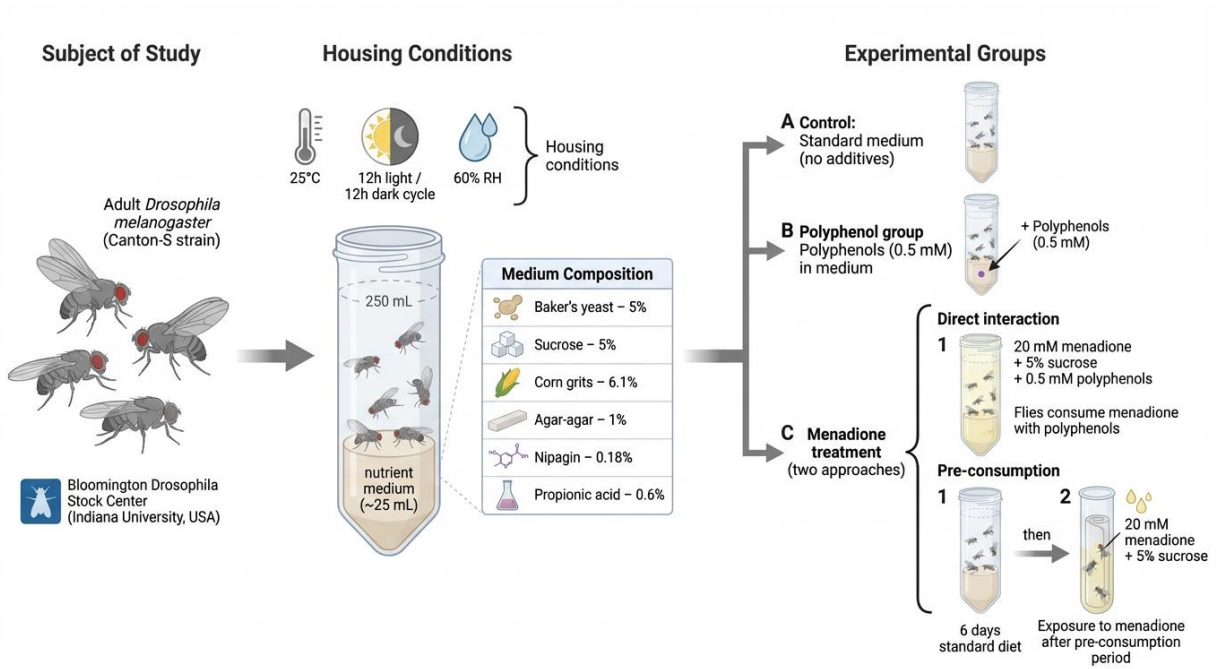
Плодових мушок вирощували у пластикових пробірках, об'ємом 250 мл при температурі 25°C з добовим циклом 12 год освітлення та 12 год відсутність світла та при вологості повітря 60%. Мухи утримувалися на живильному середовищі, приблизно 25 мл на пробірку, такого складу (мас./об.): пекарських дріжджів – 5%, цукру (сахароза) – 5%, кукурудзяної крупи – 6,1%, агар-агару – 1%, ніпагіну (метилпарабен) – 0,18%, пропіонової кислоти – 0,6%.

Для дослідження впливу поліфенолів (пірогалол, куркумін, кварцетин, пірокатехол, галова кислота) кожен з них додавали в поживне середовище в концентрації 0.5 мМ.

Для вимірювання тривалості життя за стресу, викликаного менадіоном (“пряма взаємодія”, мухи споживали менадіон разом з поліфенолами), мухи поміщалися в пробірки, де було 20 мМ менадіону, 5% сахарози та 0,5 мМ поліфенолів.

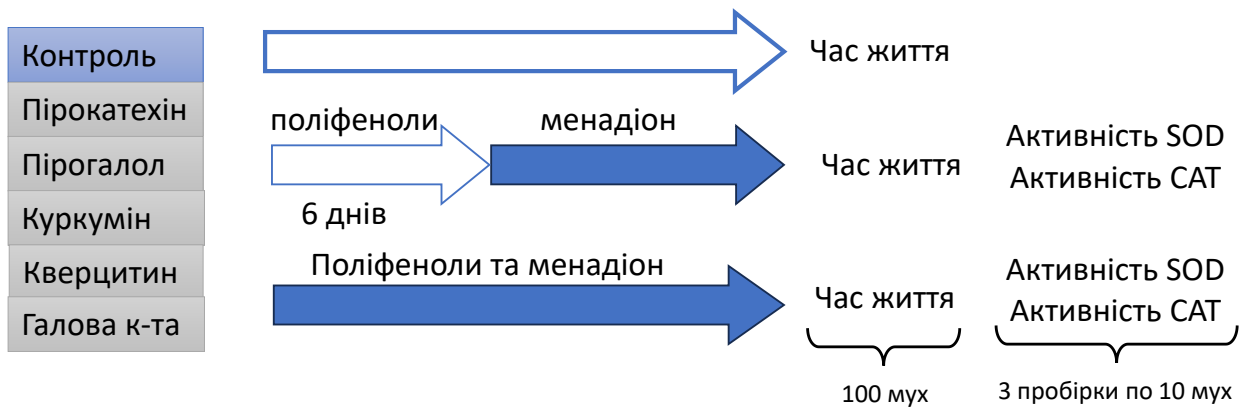
Для вимірювання тривалості життя за стресу, викликаного менадіоном (“попереднє споживання”), мухи 6 днів утримувалися на середовищі без менадіону, а потім поміщалися в пробірку, де в якості їжі отримували розчин менадіону 20 мМ та 5% сахарози на паперовій серветці. Рис. 2.1 узагальнює дизайн дослідження та відображає умови утримання *Drosophila melanogaster*, а також підходить до оцінки впливу поліфенолів за умов індукованого

оксидативного стресу (пряма взаємодія та попереднє споживання). Схему змодельовано за допомогою сервісу FigureLabs.ai.



**Рис. 2.1.** Перебіг експериментального дослідження, змодельований Figurelabs.ai

**2.2. Схема експерименту**



**Рис. 2.2.** Схема проведення експерименту щодо оцінки індукованого за використання поліфенолів оксидативного стресу у *Drosophila melanogaster*

### 2.3. Методика визначення тривалості життя

Для визначення тривалості життя *Drosophila melanogaster* використовували демографічні клітки, що являли собою тристоронню пластикову конструкцію. Дві сторони клітки були закриті прозорою плівкою (мультифорою), яка запобігала вилітанням мух, а третя – тонкою тканинною сіткою для забезпечення доступу повітря. На бокових поверхнях клітки були передбачені отвори для фіксації пластикових пробірок із поживним середовищем. Поживне середовище мало такий склад: дріжджі – 5 %, сахароза – 10 %, кукурудзяна крупа – 6,1 %, агар-агар – 1 %, ніпагін (метилпарабен) – 0,18 %. Зміну поживного середовища проводили кожні дві доби (48 год) з одночасним підрахунком і видаленням загиблих особин.

### 2.4. Підготовка проб для біохімічного аналізу

Досліджуваний матеріал (тіла мух) змішували з середовищем для гомогенізації у співвідношенні 1:10 (мг мух: мкл середовища) та гомогенізували використовували скляний гомогенізатор Поттера-Ельвех'ема. Склад середовища гомогенізації: 50 мМ калій-фосфатний буфер (рН 7,0), 0,5 мМ етилендіамінтетраацетат (ЕДТА) та 1 мМ фенілметилсульфонілфлуорид (ФМСФ, PMSF). Для розділення гомогенату на фракції використовували мікропробірки компанії "Eppendorf", що поміщалися в центрифугу Eppendorf 5415 R (Eppendorf), 13 000 об/хв, 15 хв, 4°C. Для подальших експериментів супернатант відбирали в нові мікропробірки і зберігали на холоді до вимірювань.

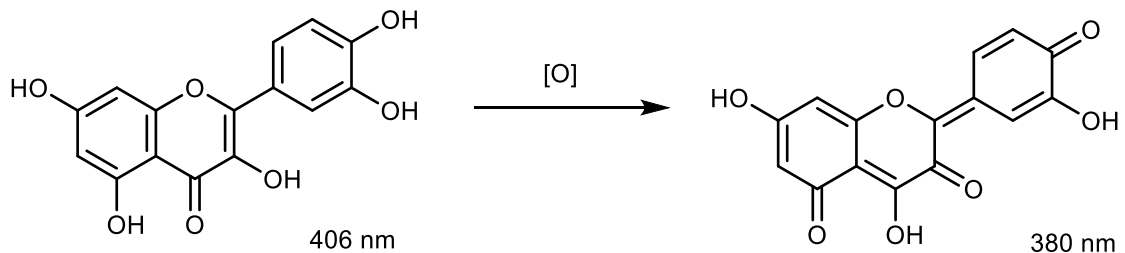
Загальний вміст білка в пробах вимірювали, використовуючи метод Бредфорда, на спектрофотометрі Eppendorf BioPhotometer (Німеччина).

## 2.5. Визначення супероксиддисмутазної активності

Супероксиддисмутаза (СОД) – фермент першої лінії антиоксидантного захисту, який каталізує реакцію перетворення супероксидного аніон-радикалу ( $O_2^{\cdot-}$ ) до пероксиду водню за наступною схемою:

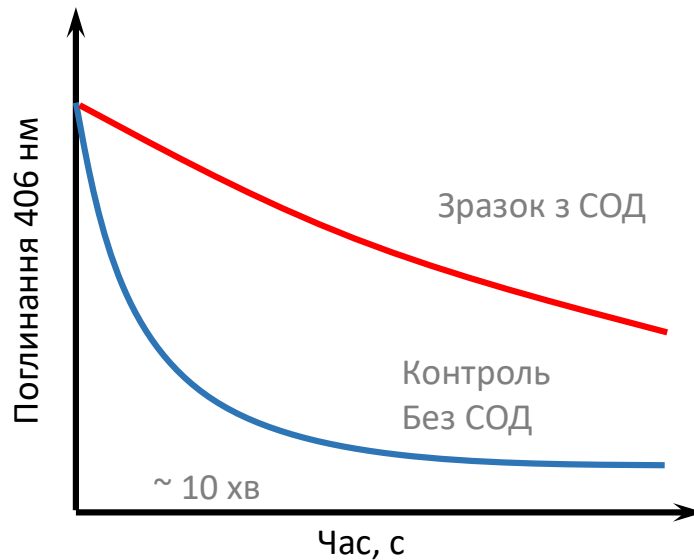


У плодової мушки, подібно до хребетних тварин, знайдено дві основні форми СОД: марганець-вмісну мітохондріальну (Mn-СОД) і мідь,цинк-вмісну цитозольну (Cu,Zn-СОД). Також було ідентифіковано позаклітинну Cu,Zn-СОД. Обраний в цій роботі метод [88] ґрунтується на інгібуванні супероксиддисмутазою реакції окиснення кверцетину і дозволяє визначити сумарну активність всіх ізоформ СОД. До розчину, що містить кверцетин (рис. 2.3) і ТЕМЕД (N,N,N',N'-тетраметилетилендіамін) – сполуку, яка в присутності кисню генерує супероксидний аніон-радикал, додають зразок.



**Рис. 2.3.** Кверцетин та його окиснена форма (один з таутомерів) [89]

Чим більша концентрація в зразку СОД, тим більше фермент конкурує з кверцетином за супероксид аніон-радикал, внаслідок чого реакція окиснення кверцетину сповільнюється (рис. 2.4). За швидкістю реакції слідкують за допомогою вимірювання поглинання суміші при 406 нм [89].



**Рис. 2.4.** Графік залежності оптичного поглинання дослідних зразків від часу інкубації за визначення супероксиддисмутазної активності

Визначення проводили в 30 мМ Трис- буфері, рН 10,0 за присутності 500 мкМ ЕДТА, 800 мкМ ТЕМЕД. Зразок, що містив тканину мух (супернатант), додавали в кількостях 0, 1, 3, 10, 30, 100 мкл на 1 мл фінального розчину. Потім додавали кверцетин (розчин в диметилформаміді) до фінальної концентрації 50 мкМ. Зміну оптичного поглинання моніторили протягом 60 с при довжині хвилі 406 нм використовуючи спектрофотометр UV-Lab 102.

На основі визначень швидкості реакції при різних кількостях препарату будувалась крива інгібування окиснення кверцетину та розраховувалась константа половинного інгібування ( $K_{50}$ ), яка дорівнює кількості мкл препарату, при якій швидкість реакції окиснення кверцетину зменшується вдвічі.

$$R/R_0 = 1/(1+V/K_{50}), \quad (2.1)$$

де  $R$  – швидкість без додавання препарату;

$R_0$  – швидкість після додавання препарату;

$V$  – об'єм доданого препарату.

Отримані величини нормували до загального вмісту білків в зразках, який, в свою чергу, визначали методом Бредфорда, та виражали в ум.од/мг білка.

## 2.6. Визначення каталазної активності

Каталаза (CAT) – тетрамерний гемвмісним фермент, який розкладає пероксид водню до молекулярного кисню та води. При цьому одна молекула  $\text{H}_2\text{O}_2$  виступає донором, а інша – акцептором:



У плодової мушки виявлено два ізоферменти, обидва з яких локалізуються в пероксисомах.

Метод визначення активності каталази ґрунтується на вимірюванні швидкості реакції диспропорціювання пероксиду водню. Для цього вимірюють зміну його концентрації по падінню характеристичного поглинання при довжині хвилі 240 нм ( $\epsilon=39,4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

До 2 мл кварцової кювети, що містить 50 мМ калій-фосфатний буфер (рН 7,0), 0,5 мМ ЕДТА та 10 мМ  $\text{H}_2\text{O}_2$  додавали 10 мкл зразка (супернатант гомогенізату). Після цього записували поглинання на 240 нМ.

Питому активність каталази розраховували за формулою:

$$A = \frac{\Delta\text{OD}_{\text{хв}} \times V_{\text{пр}}}{\epsilon_{240} \times V_{\text{суп}} \times [\text{білок}]} \times 1000, \quad (2.2)$$

де  $A$  – активність ферменту, Од/мг білка;

$\Delta\text{OD}_{\text{хв}}$  – зміна оптичного поглинання за 1 хв;

$V_{\text{пр}}$  – об'єм проби, мл;

$\varepsilon_{240}$  – коефіцієнт молярної екстинції для  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $39,4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ;

$V_{\text{суп}}$  – об'єм супернатанту, мл;

[білок] – концентрація білка в супернатанті (мг/мл).

За одну одиницю активності каталази приймали таку кількість ферменту, яка перетворює 1 мкмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$  за 1 хв в 1 мг білка.

## 2.7. Статистична обробка даних

Для статистичної обробки отриманих результатів використовували програмне забезпечення Microsoft Excel 2019 (Microsoft, США) та GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, США). Дані подано у вигляді середнього арифметичного значення та стандартної похибки (sd). Статистичну значущість відмінностей між групами оцінювали за допомогою тесту Даннета; відмінності вважали достовірними при значенні  $p < 0,05$ . Аналіз кривих виживання проводили з використанням тесту Лог-Ранк (Log-rank test).

## РОЗДІЛ 3

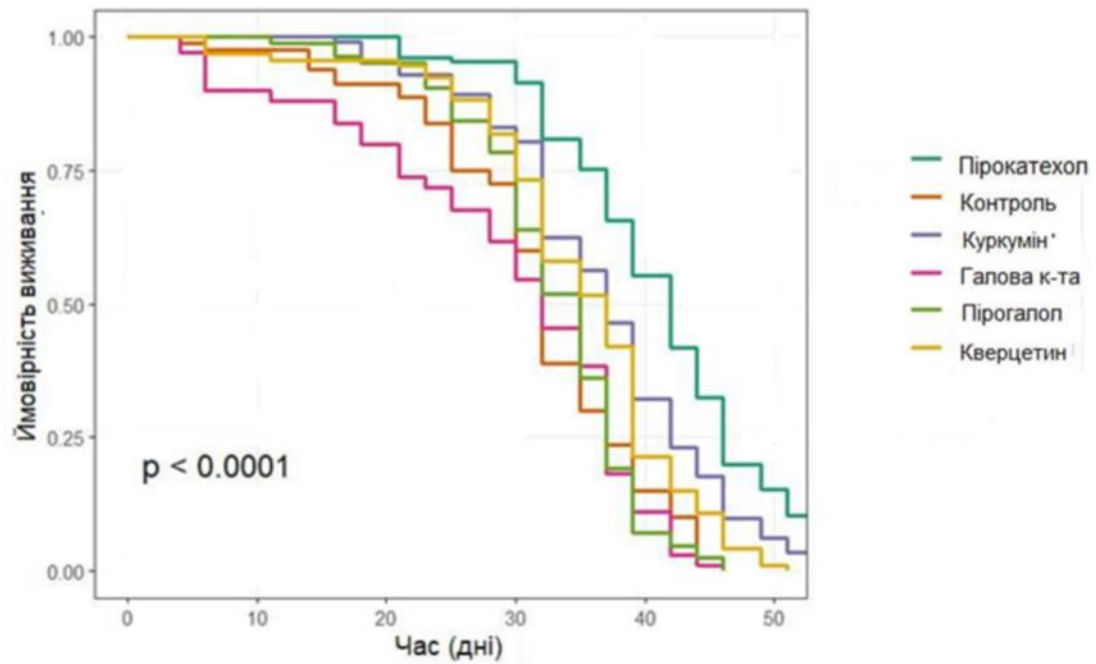
### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ОБГОВОРЕННЯ

#### 3.1. Вплив поліфенолів на тривалість життя та виживання *Drosophila melanogaster* за стандартних умов

Перш ніж оцінювати протекторні властивості поліфенолів (0,5 мМ) за умов індукованого менадіоном оксидативного стресу, критично важливим є встановлення їхнього впливу на базові фізіологічні показники організму, зокрема на тривалість життя. Багато біологічно активних речовин рослинного походження проявляють горметичний ефект (ксеногормезис) – є корисними у стресових умовах, але можуть чинити токсичний або метаболічно обтяжливий вплив за умов фізіологічної норми. Тому ми оцінили вплив поліфенолів на час і життя мух (рис. 3.1.), які вирощувалися без внесення екзогенних стресорів.

Для оцінки цього впливу було побудовано криві виживання Каплана-Маєра для імаго *D. Melanogaster* (рис. 3.1), які утримувалися на стандартному поживному середовищі з додаванням відповідних поліфенолів.

Як свідчать результати, наведені на графіках, тривале споживання поліфенолів достовірно впливає на динаміку смертності та загальну тривалість життя дрозofil (загальний логранговий критерій засвідчив високу статистичну значущість відмінностей між групами,  $p < 0.0001$ ). Аналіз окремих кривих дозволяє виділити кілька ключових тенденцій. Щодо контрольної групи, то продемонстровано стандартну динаміку старіння для лінії Canton-S за даних умов. Медіана тривалості життя (час, за який гине 50% популяції) становить близько 31-33 діб, а максимальна тривалість життя сягає 45-47 діб.



**Рис. 3.1.** Тривалість життя самиць *Drosophila melanogaster* лінії Canton-S, що споживали поживне середовище з додаванням поліфенолів. Результати представлені у вигляді загального відсоткового виживання відносно часу, для кожної мушки ( $n=20$ ). Значення для групи пірокатехолу вірогідно відмінне від значень контрольної групи,  $p < 0.0001$ , тест Log-Rank

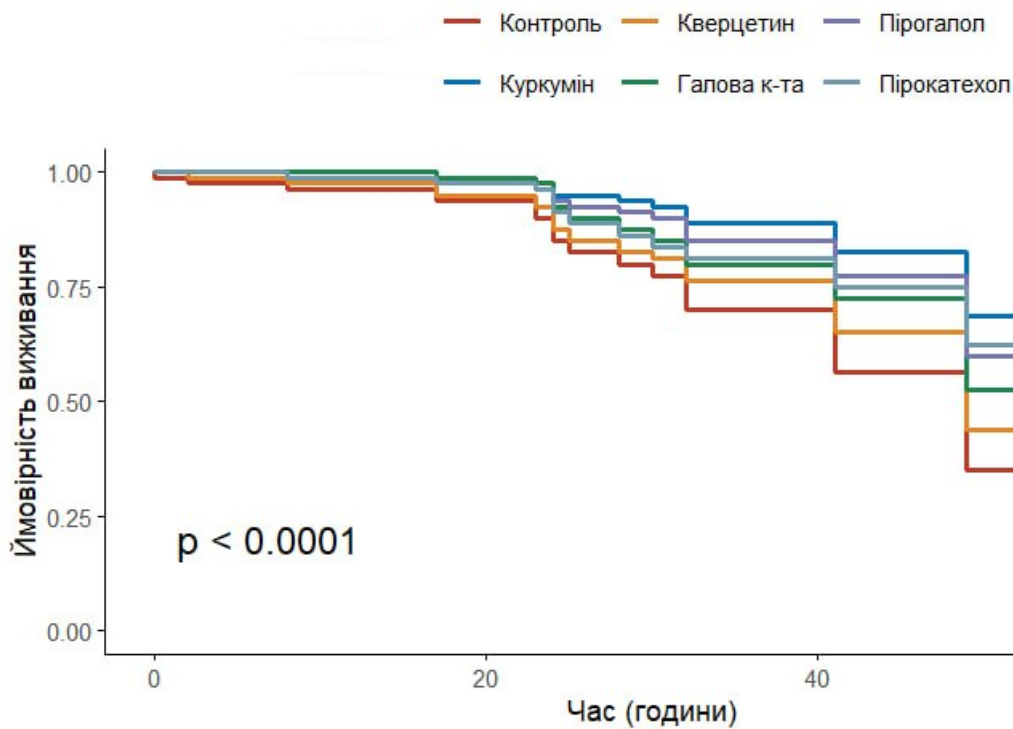
Пірокатехол виявив найбільш виражений геропротекторний ефект серед усіх досліджуваних сполук. Крива виживання цієї групи суттєво зсунута вправо. Медіана тривалості життя зросла до приблизно 42-43 діб, а значна частка популяції продовжувала жити понад 50 діб. Куркумін та кверцетин також продемонстрували позитивний вплив на виживання. Куркумін достовірно збільшив як медіану (до  $\sim 36-38$  діб), так і максимальну тривалість життя. Кверцетин показав динаміку, близьку до контролю на ранніх та середніх етапах життя, однак забезпечив зниження рівня смертності на пізніх етапах, пролонгуючи максимальну тривалість життя частини когорти до 50 діб. Пірогалол продемонстрував нейтральний вплив на базову тривалість життя. Його крива виживання тісно переплітається з контрольною, з незначним підвищенням смертності в період між 30 та 40 добами. Галова кислота на відміну від інших поліфенолів, виявила чіткий негативний вплив

на виживання за стандартних умов. Спостерігається певне падіння ймовірності виживання: медіана скоротилася до ~30 діб, а загальна динаміка смертності на ранніх етапах була найвищою серед усіх груп.

Аналіз виживання за стандартних умов демонструє, що досліджувані поліфеноли є біологічно активними модуляторами тривалості життя *D. melanogaster*. Пірокатехол, куркумін та кверцетин проявляють властивості ефективних геропротекторів, здатних розширювати межі фізіологічного старіння організму. Натомість галова кислота за даної концентрації демонструє ознаки хронічної токсичності, що підкреслює подвійну (антиоксидантну/прооксидантну) природу фенольних сполук залежно від біохімічного контексту.

Оскільки менадіон у високих концентраціях викликає масивний редокс-циклінг з генерацією несумісних із життям рівнів супероксид-аніон радикалів, динаміка смертності вимірюється не в добах, а в годинах при одночасному споживанні менадіону і поліфенолів (рис. 3.2). Це класична модель гострої токсичності, де здатність екзогенних молекул діяти як молекулярний «щит» стає основним фактором виживання.

Графік виживання демонструє високодостовірні відмінності між дослідними групами (логранговий критерій,  $p < 0.0001$ ). Аналіз кривих дозволяє чітко ранжувати протекторний потенціал поліфенолів. Контрольна група (лише менадіон) демонструє найстрімкішу динаміку смертності. Різде падіння ймовірності виживання починається вже після 20-ї год експозиції, а до 60-ї год гине переважна більшість популяції. Це свідчить про швидке виснаження ендогенних систем детоксикації та розвиток незворотних окиснювальних пошкоджень тканин. Куркумін виявив найпотужніший протекторний ефект. Крива виживання цієї групи (червона лінія) проходить найвище протягом усього періоду спостереження. Навіть на критичних позначках (40-60 год) збереженість популяції суттєво перевищувала контроль, що вказує на надзвичайно високу ефективність куркуміну як перехоплювача радикалів *in vivo*.



**Рис. 3.2.** Тривалість життя самиць *Drosophila melanogaster* лінії Canton-S, що споживали одночасно менадіон і поліфеноли. Результати представлені у вигляді загального відсоткового виживання відносно часу, для кожної мушки (n=20)

Щодо кверцетину та пірокатехолу, то ці сполуки також продемонстрували виражену захисну дію. Їхні криві виживання впевнено тримаються над контрольною лінією. Вони ефективно відтермінують масову загибель комах, підтверджуючи свій статус потужних антиоксидантів прямої дії. Пірогалол та галова кислота продемонстрували помірний захисний ефект. Хоча виживання у цих групах було достовірно вищим за контроль, воно поступалося показникам куркуміну та кверцетину. Необхідно відзначити, що галова кислота, яка виявляла ознаки токсичності за стандартних умов (без менадіону), в умовах гострого стресу здатна частково реалізувати свій антиоксидантний потенціал, компенсуючи власну негативну дію за рахунок нейтралізації набагато більш небезпечних радикалів менадіону.

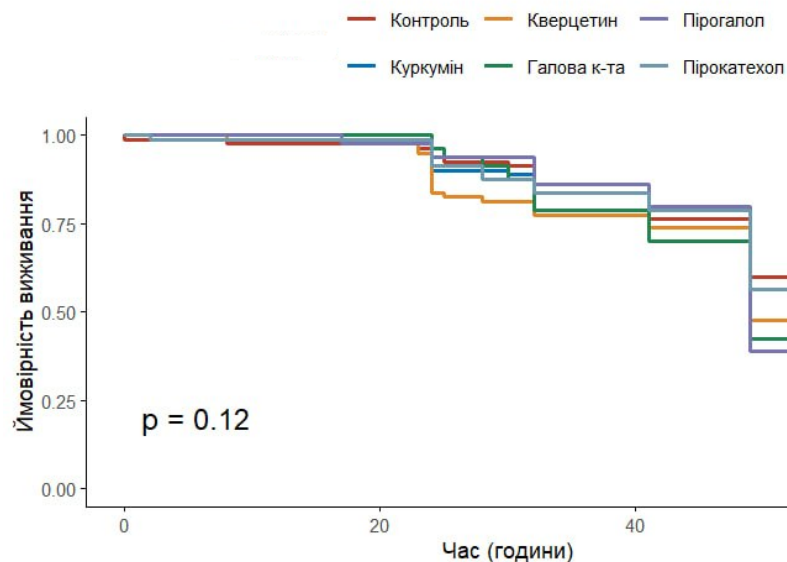
Отримані фізіологічні дані (збільшення виживання) ідеально корелюють з попередніми біохімічними результатами (зниження активності СОД та каталази).

Висока смертність у контрольній групі зумовлена тим, що менадіон ініціює ланцюгові реакції пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) мембран, карбонілювання структурних білків та пошкодження мітохондріальної ДНК. Ендогенна система (навіть працюючи на межі можливостей) не встигає дисмутувати весь потік радикалів.

При одночасному введенні поліфенолів — особливо куркуміну та кверцетину, які мають багаті на гідроксильні групи ароматичні кільця та розгалужену систему кон'югованих подвійних зв'язків — відбувається миттєва хімічна інактивація активних форм кисню. Ці екзогенні молекули віддають електрони або атоми водню супероксидним та гідроксильним радикалам, перетворюючись на відносно стабільні фенокисьні радикали. Таким чином, вони обривають ланцюгові реакції окиснення ще до того, як ті завдадуть фатальної шкоди життєво важливим макромолекулам клітини.

Результати експерименту доводять, що за моделі прямої взаємодії поліфеноли відіграють роль першої лінії оборони організму. Найвищу ефективність щодо пролонгації життя *D. melanogaster* в умовах гострого окиснювального шоку продемонстрував куркумін, за яким ідуть кверцетин та пірокатехол. Це повністю підтверджує гіпотезу про те, що зниження активності ендогенних ферментів, яке спостерігалось нами раніше, є фізіологічним індикатором успішного буферування оксидативного стресу екзогенними антиоксидантами.

Як свідчать результати, наведені на графіку (рис. 3.3), споживання різних поліфенолів чинить модулювальний вплив на динаміку смертності самиць *Drosophila melanogaster* за умов гострого оксидативного стресу.



**Рис. 3.3.** Тривалість життя самиць *Drosophila melanogaster* лінії Canton-S, що споживали тільки менадіон. Результати представлені у вигляді загального відсоткового виживання відносно часу, для кожної мушки (n=20)

Загальний логранговий критерій для всієї сукупності груп засвідчив значення  $p = 0.12$ , що вказує на наявність певних біологічних трендів при відсутності високої статистичної значущості для всієї вибірки одночасно. Аналіз окремих кривих дозволяє виділити кілька ключових тенденцій. Контрольна група демонструє базовий рівень стійкості лінії Canton-S до оксиданту. Ймовірність виживання залишається на рівні  $>90\%$  до 24-ї год експозиції, після чого починається поступове зниження. Медіана виживання (час, за який гине 50% популяції) становить приблизно 54–56 год. Пірокатехол виявив найбільш виражений протекторний ефект серед усіх досліджуваних сполук. Крива виживання цієї групи стабільно зміщена вправо відносно контролю. Особливо помітною перевага стає після 48 год стресу, де частка живих особин залишається найвищою серед усіх варіантів дослідження, що вказує на здатність сполуки ефективно нейтралізувати продукти редокс-циклування менадіону. Куркумін також продемонстрував позитивний вплив на виживання в умовах оксидативного навантаження. Хоча на ранніх етапах (до 30 год) динаміка близька до контрольної, у термінальній фазі експерименту спостерігається краще збереження життєздатності когорти, що

корелює з його відомими антиоксидантними та геропротекторними властивостями. Пірогалол та галова кислота демонструють динаміку, подібну до показників контрольної групи, з незначними флуктуаціями. Зокрема, для пірогалолу характерне прискорення смертності в інтервалі 48–55 годин, що може бути пов'язано з вичерпанням адаптивного ресурсу або проявленням власної прооксидантної активності сполуки за певних концентрацій. Кверцетин, на відміну від інших поліфенолів, у даному експерименті виявив тенденцію до зниження виживання в середньостроковій перспективі (24–48 год). Спостерігається більш раннє падіння ймовірності виживання порівняно з контролем, що може вказувати на специфічну взаємодію сполуки з менадіоном, яка посилює загальне оксидативне навантаження.

### **3.2. Вплив поліфенолів на стійкість до менадіон-індукованого оксидативного стресу**

Поліфеноли є одними з найпоширеніших природних сполук, які знаходяться в рослинах і мають великий потенціал у підвищенні стійкості клітин до оксидативного стресу. Вони здатні нейтралізувати ці радикали та запобігати пошкодженню клітинних структур, забезпечуючи їм необхідний захист.

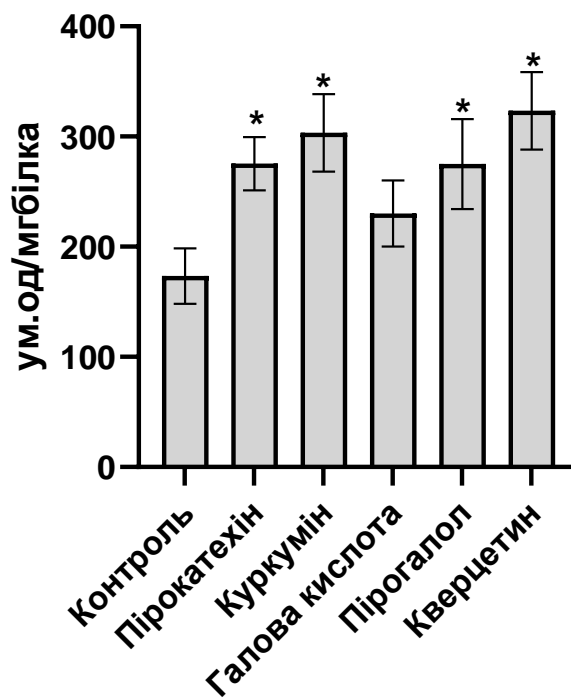
#### **3.2.1. Ефект попереднього споживання поліфенолів щодо активності антиоксидантних ферментів за дії менадіону**

Для з'ясування біохімічного підґрунтя стійкості мух за моделлю попереднього споживання, було проаналізовано базову

супероксиддисмутазну активність у тканинах дрозофіл після 6-денної експозиції з поліфенолами (рис. 3.4).

Як свідчать отримані результати, споживання низки поліфенолів призводить до суттєвої індукції ферментативної активності СОД порівняно з контрольною групою.

Щодо контрольної групи, то базова активність СОД становила приблизно 175 ум.од./мг білка. Оцінка супероксиддисмутазної активності тканин *Drosophila melanogaster*, які споживали поліфеноли до стресу, виявила специфічні показники.



**Рис. 3.4.** Супероксиддисмутазна активність тканин *Drosophila melanogaster*, які споживали поліфеноли до стресу ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

\*-  $p < 0,05$  – порівняно з контролем

Кверцетин продемонстрував найвищий індукційний ефект. Активність СОД зросла майже вдвічі, сягнувши рівня понад 320 ум.од./мг білка, що є статистично достовірним підвищенням. Куркумін також виявив потужну стимулюючу дію, підвищивши активність ферменту до рівня близько 300

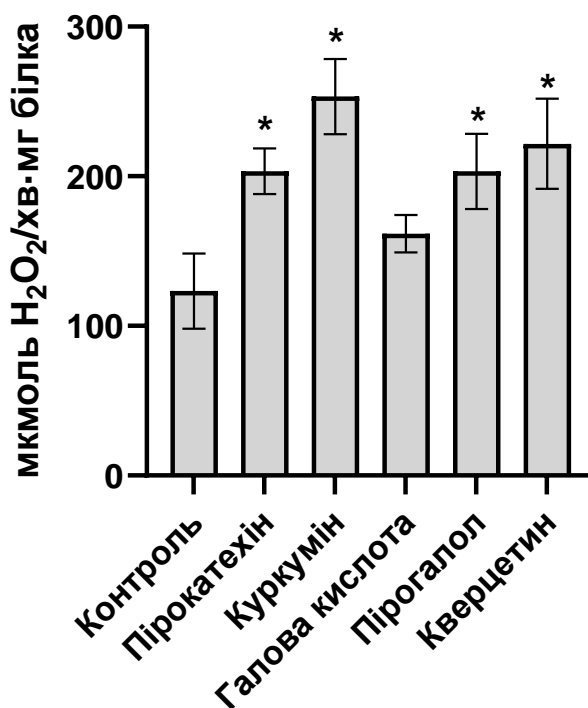
ум.од./мг білка. *Пірокатехін та пірогалол*: Обидві сполуки достовірно збільшили активність СОД до приблизно 275 ум.од./мг білка, демонструючи подібний рівень біологічної активності щодо активації антиоксидантного захисту. *Галова кислота*: На відміну від інших досліджуваних поліфенолів, галова кислота продемонструвала лише незначну тенденцію до підвищення активності ферменту (близько 230 ум.од./мг білка), що не досягло рівня статистичної значущості.

Аналізуючи отримані біохімічні дані в контексті моделі «попереднього споживання», можна стверджувати, що захисний ефект більшості досліджуваних поліфенолів (особливо кверцетину та куркуміну) базується не лише на їхніх прямих радикалозахоплюючих властивостях, а й на здатності модулювати експресію або каталітичну активність ендогенних ферментів. Попереднє надходження поліфенолів у концентрації 0,5 мМ протягом 6 діб призводить до стану фізіологічного «праймінгу» (прекондиціювання). Відповідно, при подальшому перенесенні імаго *D. melanogaster* на середовище з 20 мМ менадіону, організми мух, які споживали кверцетин, куркумін, катехол або пірогалол, стикаються з масованим викидом  $O_2^{\bullet-}$ , маючи вже суттєво розширений пул активної супероксиддисмутази. Це дозволяє ефективніше нейтралізувати первинні активні форми кисню на ранніх етапах стресу, знижувати рівень перекисного окиснення ліпідів і, як наслідок, пролонгувати тривалість життя комах за умов жорсткого оксидативного навантаження. Відсутність достовірної індукції СОД за дії галової кислоти корелює з її меншим адаптивним потенціалом у рамках даної експериментальної моделі.

Результати вимірювання базової активності каталази у тканинах імаго *D. melanogaster* після експозиції з поліфенолами (модель «попереднього споживання») наведені на рис. 3.5. Отримані дані свідчать про чітку узгодженість у роботі антиоксидантних ферментів.

Аналіз отриманих результатів дозволяє зробити висновок щодо механізмів адаптації дрозофіл до менадіон-індукованого стресу: профілі

активації каталази практично повністю повторюють патерни активації СОД. Це вказує на те, що поліфеноли (зокрема куркумін, кверцетин, катехол та пірогалол) діють не як специфічні індуктори окремих білків, а як системні модулятори сигнальних шляхів. Найбільш імовірним механізмом є активація транскрипційного фактора Nrf2 (у дрозофіл — його гомолога SncC), який зв'язується з антиоксидант-респонсивними елементами (ARE) в промоторах генів як СОД, так і каталази, запускаючи їхню спільну експресію.



**Рис. 3.5.** Каталазна активність тканин *Drosophila melanogaster*, які споживали поліфеноли до стресу (M ± m; n=10)

\*-  $p < 0,05$  – порівняно з контролем

Попереднє споживання поліфенолів (особливо кверцетину та куркуміну) забезпечує стан фізіологічного «праймінгу» організму *D. melanogaster* через системну активацію ключових антиоксидантних ферментів: СОД та каталази. Цей механізм, імовірно зумовлений активацією сигнального шляху SncC/ARE, дозволяє мухам завчасно сформувати потужний захисний бар'єр,

що ефективно нівелює руйнівну дію оксидативного стресу та суттєво підвищує їхню виживаність.

### **3.2.2. Ефект прямої взаємодії щодо активності антиоксидантних ферментів за одночасного споживання менадіону і поліфенолів**

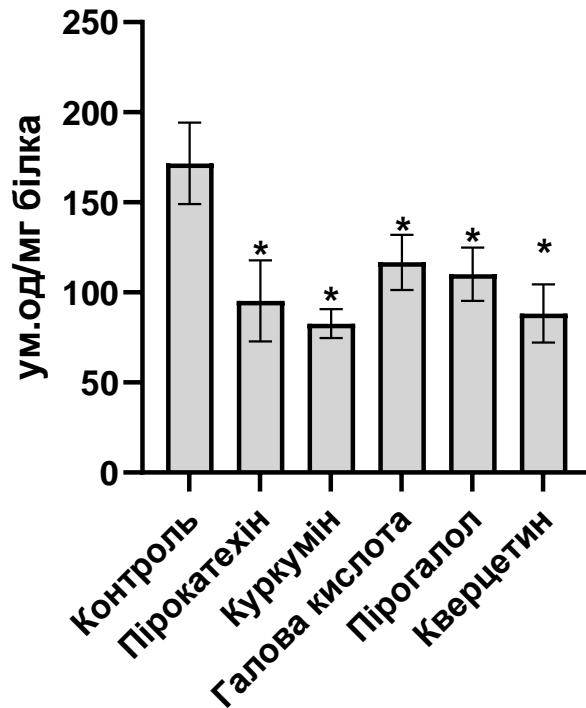
Для комплексного розуміння механізмів антиоксидантної дії поліфенолів, окрім ефекту фізіологічної преадаптації, критично важливо оцінити їхню здатність діяти як безпосередні хімічні протектори в умовах гострого стресу. З цією метою було застосовано модель «прямої взаємодії». У цьому варіанті експерименту імаго *Drosophila melanogaster* (лінія Canton-S) поміщалися в умови гострого оксидативного навантаження, споживаючи токсикант (20 мМ менадіон) одночасно з досліджуваними поліфенолами (0,5 мМ) на фоні 5% сахарози.

Менадіон (2-метил-1,4-нафтохінон) в клітині піддається одноелектронному відновленню ферментами (наприклад, НАДФН-цитохром Р450 редуктазою) з утворенням нестабільного семіхінонового радикалу. Останній швидко взаємодіє з молекулярним киснем, повертаючись у вихідну хінонову форму та генеруючи масивні пули супероксид-аніон радикалів ( $O_2^{\bullet-}$ ). Модель прямої взаємодії дозволяє оцінити, наскільки екзогенні поліфеноли здатні хімічно нейтралізувати ці процеси безпосередньо в травному тракті або гемолімфі комах, ще до моменту розвитку системної внутрішньоклітинної патології.

Аналіз базового маркера антиоксидантного захисту – ферменту супероксиддисмутази – за умов прямої взаємодії виявив кардинально інший вектор біохімічної відповіді порівняно з моделлю попереднього споживання.

Як свідчать дані, наведені на рис. 3.6, сумісне споживання менадіону та поліфенолів призводить до статистично достовірного зниження активності ендогенної СОД в усіх дослідних групах порівняно з контролем. Контрольна

група (лише менадiон, без полiфенолiв) продемонструвала високий рiвень активностi ферменту – близько 170 ум.од./мг бiлка, що є класичною компенсаторною реакцiєю органiзму на гострий окиснювальний стрес.



**Рис. 3.6.** Суперупероксиддисмутазна активнiсть тканин *Drosophila melanogaster*, якi споживали полiфеноли пiд час стресу (  $M \pm m$ ;  $n=10$ )

\*-  $p < 0,05$  – порiвняно з контролем

Куркумiн та кверцетин виявили найсильнiший ефект зниження ферментативної активностi. У цих групах показники впали бiльше нiж удвiчi (до рiвня ~80–85 ум.од./мг бiлка). Катехiн також спричинив значне i достовiрне зниження активностi СОД до рiвня близько 95 ум.од./мг бiлка. Галова кислота та пiрогалол продемонстрували дещо слабший, але статистично значущий ефект, низивши рiвень активностi ферменту до ~115 та ~110 ум.од./мг бiлка, вiдповiдно.

Результати, отриманi за моделлю «прямої взаємодiї», доводять, що полiфеноли (особливо куркумiн та кверцетин) функцiонують як

високоєфективні прямі скавенджери АФК. Достовірне зниження активності супероксиддисмутази у дослідних групах є не ознакою пригнічення антиоксидантної системи, а навпаки — біохімічним маркером того, що присутність поліфенолів у середовищі значно знижує фактичне вільнорадикальне навантаження на тканини *D. melanogaster*, тим самим нівелюючи фізіологічну потребу в гіперекспресії ендogenous захисних ферментів.

Для оцінки ефективності поліфенолів як екзогенних протекторів за моделі «споживання під час стресу» (одночасне надходження 20 мМ менадіону та 0,5 мМ досліджуваних речовин), було проаналізовано зміни активності каталази у тканинах імаго *Drosophila melanogaster* (рис. 3.7).

Результати, наведені на рис. 3.7, демонструють чітку та статистично достовірну динаміку зміни активності каталази, яка корелює з раніше виявленими змінами активності СОД за аналогічної експериментальної моделі.

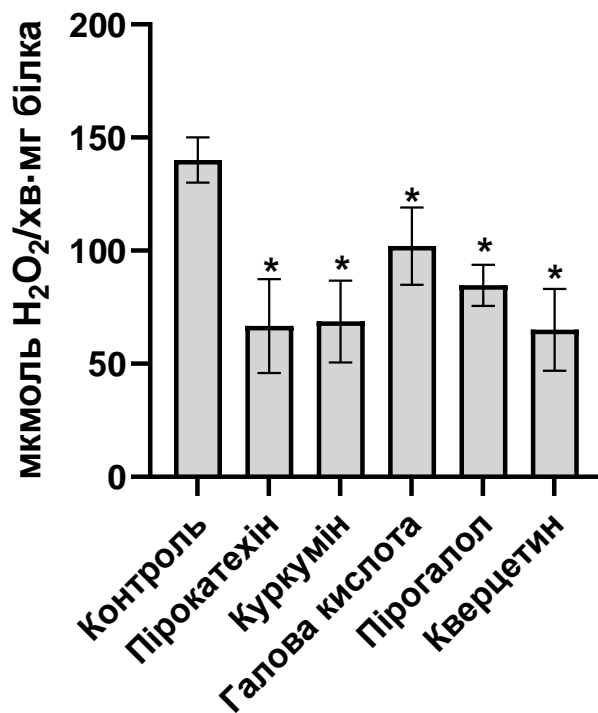
Контрольна група (споживання виключно 20 мМ менадіону на фоні 5% сахарози) характеризується найвищим рівнем активності ферменту – близько 140 мкмоль  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв}\cdot\text{мг}$  білка. Це відображає максимальну мобілізацію ендogenous антиоксидантних резервів у відповідь на надмірне утворення  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Усі без винятку дослідні групи, що споживали поліфеноли разом із менадіоном, продемонстрували статистично значуще зниження активності каталази порівняно з контролем.

Катехін, куркумін та кверцетин виявили найвираженіший ефект: активність каталази у цих групах знизилася більш ніж удвічі (до рівня ~65–70 мкмоль  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв}\cdot\text{мг}$  білка). Пірогалол та галова кислота також призвели до достовірного зниження активності ферменту, яке склало до ~85 та ~100 мкмоль  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв}\cdot\text{мг}$  білка, відповідно, хоча їхній ефект був дещо менш вираженим порівняно з іншими сполуками.

Зниження активності каталази в умовах одночасного надходження стресора та поліфенолів підтверджує гіпотезу про прямий хімічний

скавенджинг (перехоплення радикалів) як основний механізм дії цих сполук у моделі гострого стресу.

Аналіз активності каталази за умов одночасного споживання менадіону та поліфенолів доводить, що досліджувані речовини функціонують як потужний молекулярний «щит». Достовірне зниження каталазної активності є індикатором того, що екзогенні антиоксиданти успішно купірують окиснювальний каскад на ранніх етапах, запобігаючи неконтрольованій генерації пероксиду водню та зберігаючи біохімічний гомеостаз тканин дрозофіли без необхідності виснажливої гіперекспресії ендогенних ферментів.



**Рис. 3.7.** Каталазна активність тканин *Drosophila melanogaster*, які споживали поліфеноли до стресу (А) та під час стресу (Б) ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

\*-  $p < 0,05$  – порівняно з контролем

Сумісне споживання поліфенолів з менадіоном призводить до статистично значущого зниження активності СОД та каталази, що свідчить

про їхню роль як потужних прямих скавенджерів (перехоплювачів) активних форм кисню. У цій моделі поліфеноли діють як екзогенний молекулярний «щит», який бере на себе основне вільнорадикальне навантаження, тим самим нівелюючи потребу організму в енерговитратній гіперекспресії власних захисних ферментів.

Дослідження виявило два фундаментальні механізми антиоксидантної дії поліфенолів: системну преадаптацію (через індукцію ендогенних ферментів СОД і каталази за моделі «попереднього споживання») та прямий хімічний захист (через скавенджинг радикалів за моделі «прямої взаємодії»). В обох випадках поліфеноли (особливо кверцетин і куркумін) ефективно нівелюють наслідки оксидативного стресу, проте роблять це різними шляхами: або завчасно готуючи організм до навантаження через механізм «праймінгу», або діючи як молекулярний «щит», що знижує потребу в мобілізації власних ферментативних ресурсів імаго.

## ВИСНОВКИ

Таким чином, проведене дослідження свідчить, що поліфеноли чинять комплексний вплив на реалізацію менадіон-індукованого оксидативного стресу у *Drosophila melanogaster*, модифікуючи інтенсивність його перебігу. Отримані результати розширюють сучасні уявлення про роль поліфенольних сполук у регуляції прооксидантно-антиоксидантного балансу та механізмах адаптації організму до оксидативного стресу.

1. Виявлено, що поліфеноли не впливають значущо на тривалість життя *Drosophila melanogaster* за відсутності оксидативного стресу.
2. Оцінено вплив поліфенолів на стійкість *Drosophila melanogaster* до менадіон-індукованого оксидативного стресу: за споживання поліфенолів під час стресу – тривалість життя зростає, водночас до введення прооксидантного індуктора, то достовірного зростання не відмічено.
3. Встановлено зміни суперпероксиддисмутазної та каталазної активностей за менадіон-індукованого оксидативного стресу на фоні споживання поліфенолів. Активності обох антиоксидантних ферментів зростають за споживання поліфенолів до введення прооксидантного індуктора; споживання поліфенолів під час стресу спричиняє зниження ферментативних активностей.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Jurcau, M., Jurcau, A. and Diaconu, R. (2024). Oxidative stress in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Stresses*, 4(4), pp. 827–849.
2. Cha, S., Do, H., Choi, H., Lee, M. and Kim, K. (2019). The Drosophila model: Exploring novel therapeutic compounds against neurodegenerative diseases. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, [online] Volume 8(12), p. 623. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox8120623> [Accessed 6 Dec. 2019].
3. Forman, H. and Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 20(9), pp. 689–709.
4. Zimmerman, M. and Case, A. (2019). Redox biology in physiology and disease. *Redox Biology*, [online] Volume 27, p. 101267. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101267> [Accessed Oct. 2019].
5. Gomez-Contreras, P., Kluz, P., Hines, R. and Coleman, M. (2021). Intersections between mitochondrial metabolism and redox biology mediate posttraumatic osteoarthritis. *Current Rheumatology Reports*, [online] Volume 23(5), p. 32. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11926-021-00994-z> [Accessed 24 Apr. 2021].
6. Afrose, D., Alfonso-Sánchez, S. and McClements, L. (2025). Targeting oxidative stress in preeclampsia. *Hypertension in Pregnancy: Official Journal of the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*, [online] Volume 44(1), p. 2445556. Available at: <https://doi.org/10.1080/10641955.2024.2445556> [Accessed 27 Dec. 2025].
7. Gorrini, C., Harris, I. and Mak, T. (2013). Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 12(12), pp. 931–947.
8. Hybertson, B., Gao, B., Bose, S. and McCord, J. (2011). Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. *Molecular Aspects of Medicine*, 32(4–6), pp. 234–246.

9. Jiao, Y., Zhang, X. and Yang, Z. (2024). SUMO-specific proteases: SENPs in oxidative stress-related signaling and diseases. *BioFactors*, 50(5), pp. 910–921.
10. Kimball, J., Johnson, J. and Carlson, D. (2021). Oxidative stress and osteoporosis. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, 103(15), pp. 1451–1461.
11. Sies, H., Mailloux, R. and Jakob, U. (2024). Fundamentals of redox regulation in biology. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 25(9), pp. 701–719.
12. van der Pol, A., van Gilst, W., Voors, A. and van der Meer, P. (2019). Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future: Treating oxidative stress in heart failure. *European Journal of Heart Failure*, 21(4), pp. 425–435.
13. Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F., Jr and Krause, K. (2012). Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Medical Weekly*, [online] Volume 142, p. w13659. Available at: <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13659> [Accessed 12 Aug. 2012].
14. Liu, H., Jiao, Y., Wang, P.-C., Chen, Y., Xu, M., Zhang, X., Zheng, X. and Yang, Z. (2026). Oxidative stress and antioxidant therapeutic mechanisms. *Pharmacology and Therapeutics*, [online] Volume 278, p. 108962. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2025.108962> [Accessed Feb. 2026].
15. Matsui, R., Ferran, B., Oh, A., Croteau, D., Shao, D., Han, J., Pimentel, D. and Bachschmid, M. (2020). Redox regulation via glutaredoxin-1 and protein S-glutathionylation. *Antioxidants and Redox Signaling*, 32(10), pp. 677–700.
16. Sies, H., Berndt, C. and Jones, D. (2017). Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86(1), pp. 715–748.
17. Birben, E., Sahiner, U., Sackesen, C., Erzurum, S. and Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization Journal*, 5(1), pp. 9–19.

18. Miller, D., Buettner, G. and Aust, S. (1990). Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(1), pp. 95–108.
19. Klebanoff, S. (2005). Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of Leukocyte Biology*, 77(5), pp. 598–625.
20. Whiteman, M., Jenner, A. and Halliwell, B. (1997). Hypochlorous acid-induced base modifications in isolated calf thymus DNA. *Chemical Research in Toxicology*, 10(11), pp. 1240–1246.
21. Kulcharyk, P. and Heinecke, J. (2001). Hypochlorous acid produced by the myeloperoxidase system of human phagocytes induces covalent cross-links between DNA and protein. *Biochemistry*, 40(12), pp. 3648–3656.
22. Brennan, M., Wu, W., Fu, X., Shen, Z., Song, W., Frost, H., Vadseth, C., Narine, L., Lenkiewicz, E., Borchers, M., Lusic, A., Lee, J., Lee, N., Abu-Soud, H., Ischiropoulos, H. and Hazen, S. (2002). A tale of two controversies: defining both the role of peroxidases in nitrotyrosine formation in vivo using eosinophil peroxidase and myeloperoxidase-deficient mice, and the nature of peroxidase-generated reactive nitrogen species: Defining both the role of peroxidases in nitrotyrosine formation in vivo using eosinophil peroxidase and myeloperoxidase-deficient mice, and the nature of peroxidase-generated reactive nitrogen species. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(20), pp. 17415–17427.
23. Denzler, K., Borchers, M., Crosby, J., Cieslewicz, G., Hines, E., Justice, J., Cormier, S., Lindenberger, K., Song, W., Wu, W., Hazen, S., Gleich, G., Lee, J. and Lee, N. (2001). Extensive eosinophil degranulation and peroxidase-mediated oxidation of airway proteins do not occur in a mouse ovalbumin-challenge model of pulmonary inflammation. *Journal of Immunology*, 167(3), pp. 1672–1682.
24. van Dalen, C., Winterbourn, C., Senthilmohan, R. and Kettle, A. (2000). Nitrite as a substrate and inhibitor of myeloperoxidase. Implications for nitration and hypochlorous acid production at sites of inflammation:

- Implications for nitration and hypochlorous acid production at sites of inflammation. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(16), pp. 11638–11644.
25. Halliwell, B. and Gutteridge, J. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. 5<sup>th</sup> ed. Oxford: Oxford University Press.
26. Sies, H. and Jones, D. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 21(7), pp. 363–383.
27. Halliwell, B. (2006). Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141(2), pp. 312–322.
28. Iciek, M., Bilska-Wilkosz, A., Kozdrowicki, M. and Górny, M. (2022). Reactive sulfur species and their significance in health and disease. *Bioscience Reports*, [online] Volume 42(9), p. BSR20221006. Available at: <https://doi.org/10.1042/BSR20221006> [Accessed 14 Sep. 2022].
29. Lau, N. and Pluth, M. (2019). Reactive sulfur species (RSS): persulfides, polysulfides, potential, and problems. *Current Opinion in Chemical Biology*, 49, pp. 1–8.
30. Lei, Y., Lei, X., Westerhoff, P., Zhang, X. and Yang, X. (2021). Reactivity of chlorine radicals ( $\text{Cl}\cdot$  and  $\text{Cl}_2\cdot^-$ ) with dissolved organic matter and the formation of chlorinated byproducts. *Environmental Science & Technology*, 55(1), pp. 689–699.
31. Guo, K., Zhang, Y., Wu, S., Qin, W., Wang, Y., Hua, Z., Chen, C. and Fang, J. (2023). Comprehensive assessment of reactive bromine species in advanced oxidation processes: Differential roles in micropollutant abatement in bromide-containing water. *Environmental Science and Technology*, 57(48), pp. 20339–20348.
32. Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. *Archives of Toxicology*, 99(5), pp. 1893–1997.

33. Halliwell, B. (2024). Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 25(1), pp. 13–33.
34. Wang, Y., Branicky, R., Noë, A. and Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *The Journal of Cell Biology*, 217(6), pp. 1915–1928.
35. Rhee, S., Woo, H., Kil, I. and Bae, S. (2012). Peroxiredoxin functions as a peroxidase and a regulator and sensor of local peroxides. *The Journal of Biological Chemistry*, 287(7), pp. 4403–4410.
36. Rhee, S. and Woo, H. (2020). Multiple functions of 2-Cys peroxiredoxins, I and II, and their regulations via post-translational modifications. *Free Radical Biology and Medicine*, 152, pp. 107–115.
37. Toledano, M. and Huang, B. (2016). Microbial 2-cys peroxiredoxins: Insights into their complex physiological roles. *Molecules and Cells*, 39(1), pp. 31–39.
38. Pei, J., Pan, X., Wei, G. and Hua, Y. (2023). Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxidation. *Frontiers in Pharmacology*, [online] Volume 14, p. 1147414. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1147414> [Accessed 2 Mar. 2023].
39. Zhang, W., Liu, Y., Liao, Y., Zhu, C. and Zou, Z. (2024). GPX4, ferroptosis, and diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapie*, [online] Volume 174, p. 116512. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116512> [Accessed May 2024].
40. Hansberg, W. (2022). Monofunctional heme-catalases. *Antioxidants*, [online] Volume 11(11), p. 2173. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox11112173> [Accessed 2 Nov. 2022].
41. Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. *Arch Toxicol.*, 99, pp. 1893–1997

42. Díaz, A., Loewen, P., Fita, I. and Carpena, X. (2012). Thirty years of heme catalases structural biology. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 525(2), pp. 102–110.
43. Goyal, M. and Basak, A. (2010). Human catalase: looking for complete identity. *Protein and Cell*, 1(10), pp. 888–897.
44. Tsiftoglou, A., Tsamadou, A. and Papadopoulou, L. (2006). Heme as key regulator of major mammalian cellular functions: molecular, cellular, and pharmacological aspects. *Pharmacology and Therapeutics*, 111(2), pp. 327–345.
45. Flohé, L., Toppo, S. and Orian, L. (2022). The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism. *Free Radical Biology and Medicine*, 187, pp. 113–122.
46. Giustarini, D., Milzani, A., Dalle-Donne, I. and Rossi, R. (2023). How to increase cellular glutathione. *Antioxidants*, [online] Volume 12(5), p. 1094. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox12051094> [Accessed 13 May 2023].
47. Vašková, J., Kočan, L., Vaško, L. and Perjési, P. (2023). Glutathione-related enzymes and proteins: A review. *Molecules*, [online] Volume 28(3), p. 1447. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules28031447> [Accessed 2 Feb. 2023].
48. Bersuker, K., Hendricks, J., Li, Z., Magtanong, L., Ford, B., Tang, P., Roberts, M., Tong, B., Maimone, T., Zoncu, R., Bassik, M., Nomura, D., Dixon, S. and Olzmann, J. (2019). The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis. *Nature*, 575(7784), pp. 688–692.
49. Almsherqi, Z. (2021). Potential role of plasmalogens in the modulation of biomembrane morphology. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, [online] Volume 9, p. 673917. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.673917> [Accessed 21 Jul. 2021].
50. Lessig, J. and Fuchs, B. (2009). Plasmalogens in biological systems: their role in oxidative processes in biological membranes, their contribution to

- pathological processes and aging and plasmalogen analysis. *Current Medicinal Chemistry*, 16(16), pp. 2021–2041.
51. Crotty, G., Ascherio, A. and Schwarzschild, M. (2017). Targeting urate to reduce oxidative stress in Parkinson disease. *Experimental Neurology*, 298(Pt B), pp. 210–224.
52. Selye, H. (1955). Stress and disease. *Science*, 122(3171), pp. 625–631.
53. Weber, J., Klein, S. and Wolfe, R. (1990). Role of the glucose cycle in control of net glucose flux in exercising humans. *Journal of Applied Physiology*, 68(5), pp. 1815–1819.
54. Azzi, A., Davies, K. and Kelly, F. (2004). Free radical biology - terminology and critical thinking. *FEBS Letters*, 558(1–3), pp. 3–6.
55. Pompella, A., Sies, H., Wacker, R., Brouns, F., Grune, T., Biesalski, H. and Frank, J. (2014). The use of total antioxidant capacity as surrogate marker for food quality and its effect on health is to be discouraged. *Nutrition*, 30(7–8), pp. 791–793.
56. Stromsnes, K., Lagzdina, R., Olaso-Gonzalez, G., Gimeno-Mallench, L. and Gambini, J. (2021). Pharmacological properties of polyphenols: Bioavailability, mechanisms of action, and biological effects in *in vitro* studies, animal models, and humans. *Biomedicines*, [online] Volume 9(8), p. 1074. Available at: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9081074> [Accessed 23 Aug. 2021].
57. Dai, J. and Mumper, R. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), pp. 7313–7352.
58. D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C. and Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*, 43(4), pp. 348–361.
59. Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Huđek, A., Bačun-Družina, V. and Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties. In: C. Galanakis, ed. *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*, Cambridge: Woodhead Publishing. pp. 3–44.

60. Lattanzio, V., Kroon, P., Quideau, S. and Treutter, D. (2008). Plant Phenolics – Secondary Metabolites with Diverse Functions. *Recent Advances in Polyphenols Research*, 1, pp. 1–35.
61. Luo, M., Han, Y., Chen, Y., Du, H., Chen, B., Gao, Z., Wang, Q., Cao, Y. and Xiao, H. (2024). Unveiling the role of gut microbiota in curcumin metabolism using antibiotic-treated mice. *Food Chemistry*, [online] Volume 460(Pt 2), p. 140706. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140706> [Accessed 1 Dec. 2024].
62. Luo, M., Han, Y., Sun, Y., Wu, Y., Bechtel, T., Wong, S., Shen, P., Du, H., Gibbons, J. and Xiao, H. (2025). Variability of lactic acid bacteria in curcumin metabolism and its biological implications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 73(15), pp. 8935–8943.
63. Cui, J., Li, H., Zhang, T., Lin, F., Chen, M., Zhang, G. and Feng, Z. (2025). Research progress on the mechanism of curcumin anti-oxidative stress based on signaling pathway. *Frontiers in Pharmacology*, [online] Volume 16, p. 1548073. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1548073> [Accessed 7 Apr. 2025].
64. Mohseni, S., Tavakoli, A., Ghazipoor, H., Poralimohamadi, N., Zare, R., Rampp, T., Shayesteh, M. and Pasalar, M. (2025). Curcumin for the clinical treatment of inflammatory bowel diseases: a systematic review and meta-analysis of placebo-controlled randomized clinical trials. *Frontiers in Nutrition*, [online] Volume 12, p. 1494351. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1494351> [Accessed 24 Mar. 2025].
65. Liang, D., Shen, X., Han, L., Ren, H., Zang, T., Tan, L., Lu, Z., Liao, X., Vetha, B., Liu, Y., Zhang, C. and Sun, J. (2024). Dual-ROS sensitive moieties conjugate inhibits curcumin oxidative degradation for colitis precise therapy. *Advanced Healthcare Materials*, [online] Volume 13(13), p. e2303016. Available at: <https://doi.org/10.1002/adhm.202303016> [Accessed 3 Mar. 2024].

66. Yang, H., Zhang, X., Wu, J., Xiao, Y., Dai, L., Wang, G., Zhang, X., Hu, C., He, S. and Yuan, Z. (2025). Probiotic membrane-modified nanocomposite alleviates inflammation and Microbiota dysbiosis in colitis by scavenging oxidative stress and restoring immune homeostasis. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 17(15), pp. 22245–22265.
67. Liu, C. and Liu, B. (2022). Boundedness in a quasilinear two-species chemotaxis system with nonlinear sensitivity and nonlinear signal secretion. *Journal of Differential Equations*, 320, pp. 206–246.
68. Alharbi, H., Alshebemi, M., Babiker, A. and Rahmani, A. (2025). The role of quercetin, a flavonoid in the management of pathogenesis through regulation of oxidative stress, inflammation, and biological activities. *Biomolecules*, [online] Volume 15(1), p. 151. Available at: <https://doi.org/10.3390/biom15010151> [Accessed 20 Jan. 2025].
69. Lyu, Y., Zhou, H., Yang, J., Wang, F., Sun, F. and Li, J. (2022). Biological activities underlying the therapeutic effect of quercetin on inflammatory bowel disease. *Mediators of Inflammation*, [online] Volume 2022, p. 5665778. Available at: <https://doi.org/10.1155/2022/5665778> [Accessed 23 Jul. 2022].
70. Topçu-Tarladaçalışır, Y., Sapmaz-Metin, M., Mercan, Z. and Erçetin, D. (2024). Quercetin attenuates endoplasmic reticulum stress and apoptosis in TNBS-induced colitis by inhibiting the glucose regulatory protein 78 activation. *Balkan Medical Journal*, 41, pp. 30–37.
71. Khater, S., Lotfy, M., Alandiyjany, M., Alqahtani, L., Zagloul, A., Althobaiti, F., Ismail, T., Soliman, M., Saad, S. and Ibrahim, D. (2022). Therapeutic potential of quercetin loaded nanoparticles: Novel insights in alleviating colitis in an experimental DSS induced colitis model. *Biomedicines*, [online] Volume 10(7), p. 1654. Available at: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10071654> [Accessed 9 Jul. 2022].
72. Shen, C., Zhao, L., Du, X., Tian, J., Yuan, Y., Jia, M., He, Y., Zeng, R., Qiao, R. and Li, C. (2021). Smart responsive quercetin-conjugated glycol

- chitosan prodrug micelles for treatment of inflammatory bowel diseases. *Molecular Pharmaceutics*, 18(3), pp. 1419–1430.
73. Arias, A. (2008). *Drosophila melanogaster* and the development of biology in the 20th century. *Methods in Molecular Biology*, 420, pp. 1–25.
74. Ананьєв, Є. (1984). Молекулярна цитогенетика мобільних генетичних елементів *Drosophila melanogaster*. *Висновки науки і техніки. Молекулярна біологія*, 20, сс. 65–105.
75. Вайсман, Н. (2004). Сигнальні шляхи клітин в онтогенезі тварин на прикладі Notch каскаду у *Drosophila melanogaster*. *Журн. заг. біології*, 65(4), сс. 322–333.
76. Фандо, Р. та Музрукова, Є. (2008). Взаємопроникнення медичних і біологічних поглядів в проблему спадковості людини: історико-науковий аналіз. *Інформаційний вісник ВОГіС*, 12, сс. 474–482.
77. Willcox, J., Ash, S. and Catignani, G. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), pp. 275–295.
78. Heim, K., Tagliaferro, A. and Bobilya, D. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), pp. 572–584.
79. Kumar, S., Sharma, U., Sharma A. and Pandey, A. (2012). Protective efficacy of *Solanum xanthocarpum* root extracts against free radical damage: phytochemical analysis and antioxidant effect. *Cellular and Molecular Biology*, 58(1), pp. 174–181.
80. Mishra, A., Kumar, S. and Pandey, A. (2013) Scientific validation of the medicinal efficacy of *Tinospora cordifolia*. *The Scientific World Journal*, [online] Volume 2013, p.8. Available at: <https://doi.org/10.1155/2013/292934> [Accessed 23 Dec. 2013].
81. Oteiza, P., Erlejman, A., Verstraeten, S., Keen, C. and Fraga, C. (2005). Flavonoid-membrane interactions: a protective role of flavonoids at the

- membrane surface? *Clinical and Developmental Immunology*, 12(1), pp.19–25.
82. Nijveldt, R., van Nood, E., van Hoorn, D., Boelens, P., van Norren, K. and van Leeuwen, P. (2001) Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4), pp. 418–425.
83. Cheon, B., Kim, Y., Son, K., Chang, H., Kang, S. and Kim, H. (2000). Effects of prenylated flavonoids and biflavonoids on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production from the mouse macrophage cell line RAW 264.7. *Planta Medica*, 66(7), pp. 596–600.
84. Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. and Rahu, N. (2016). Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, [online] Volume 2016(1), p. 7432797. Available at: <https://doi.org/10.1155/2016/7432797> [Accessed 22 Sep. 2016].
85. Sarkar, A. and Bhaduri, A. (2001). Black tea is a powerful chemopreventor of reactive oxygen and nitrogen species: comparison with its individual catechin constituents and green tea. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 284(1), pp. 173–178.
86. Hong, J., Smith, T., Ho, C., August, D. and Yang, C. (2001). Effects of purified green and black tea polyphenols on cyclooxygenase- and lipoxygenase-dependent metabolism of arachidonic acid in human colon mucosa and colon tumor tissues. *Biochemical Pharmacology*, 62(9), pp. 1175–1183.
87. Nagao, A., Seki, M. and Kobayashi, H. (1999). Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 63(10), pp. 1787–1790.
88. Lushchak, V., Semchyshyn, H., Lushchak, O. and Mandryk, S. (2005). Diethyldithiocarbamate inhibits in vivo Cu,Zn-superoxide dismutase and perturbs free radical processes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells.

*Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338(4), pp. 1739–1744.

89. Kostyuk, V. and Potapovich, A. (1989). Superoxide--driven oxidation of quercetin and a simple sensitive assay for determination of superoxide dismutase. *Biochemistry international*, 19(5), pp. 1117–1124.

