

ДЕЙСТВИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ «РЕСВЕРАТРОЛ – СЕРАНИТРОЗИЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ЖЕЛЕЗА НАТРИЙ- μ 2-ДИТИОСУЛЬФАТОТЕТРАНИТРОЗИЛДИФЕРАТ ТЕТРАГИДРАТ» НА МИТОХОНДРИИ ЭПИКОТИЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА *in vitro*

© 2023 г. Н.Ю. Герасимов*,[#], О.В. Неврова*, И.В. Жигачева*,
И.П. Генерозова**, А.Н. Голощапов

Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля

Российской академии наук, 119334 ул. Косыгина, 4, г. Москва, Россия

2Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева

Российской академии наук, 12727 ул. Ботаническая, 35, г. Москва, Россия

[#]E-mail: n.yu.gerasimov@gmail.com

Поступила в редакцию 03.01.2023 г.

После доработки 03.04.2023 г.

Принята к публикации 05.07.2023 г.

Проведено исследование взаимодействия антиоксидантов – растительного полифенола ресвератрола и донора оксида азота серанитрозильного комплекса железа с тиосульфатом $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ТНКЖ-тио) – и их совместного действия на митохондрии эпикотилей проростков гороха *in vitro*. Антиоксидантная активность ресвератрола в концентрации 10^{-6} М частично компенсировала токсическое действие ТНКЖ-тио в большой концентрации, что вероятнее всего связано с проявлением прооксидантных свойств высоких концентраций донора оксида азота. Воздействие ресвератрола в концентрациях 10^{-6} М и 10^{-8} М на мембраны митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, в присутствии 10^{-8} М ТНКЖ-тио, приводило к нарушению связей в системе регуляции пероксидного окисления липидов мембран, что вызывало антиоксидантный стресс. Действие ресвератрола в дозе $2 \cdot 10^{-5}$ М носило двойственный характер и практически не влияло на структурное состояние мембран митохондрий.

Ключевые слова: структура мембран митохондрий, микровязкость мембран, полифенол, донор оксида азота, антиоксидантный стресс.

DOI: 10.31857/S000630292304004X, EDN: KJQGFU

Окислительные процессы, в которых митохондрии играют ключевую роль, оказывают принципиальное влияние на жизнедеятельность клеток. В процессе окислительного фосфорилирования на мембранах митохондрий образуются супероксид, пероксид водорода и свободные радикалы. Окисление липидов, вызванное накоплением активных форм кислорода (АФК), уменьшает количество ненасыщенных жирных кислот в липидах мембран клеток, что приводит к изменению микровязкости липидного бислоя. АФК могут также разрушать липиды, вызывая патологические нарушения в мембранах, приводя, вероятно, к митохондриальным дисфункциям и за-

пуская процессы клеточного старения [1]. Вместе с тем процесс здоровой работы клетки зависит от баланса между образованием АФК и поддержанием их на относительно низком уровне. В присутствии антиоксидантов через регуляцию скорости пероксидного окисления липидов мембранами может достигаться нормальный гомеостаз клетки. Однако в зависимости от условий антиоксиданты могут проявлять как антиоксидантный, так и прооксидантный эффект [2, 3]. При взаимодействии с АФК антиоксиданты, отдавая или принимая электрон, могут становиться реакционноспособными свободнорадикальными частицами и проявлять прооксидантный эффект. Иными словами, такая частица может не только нейтрализовать АФК, но и приводить к увеличению количества АФК, например, как в случае витамина С в реакции Фентона за счет присутствия ионов переходных металлов [4–6], и обра-

Сокращения: АФК – активные формы кислорода, NO – оксид азота, ТНКЖ-тио – серанитрозильный комплекс железа с тиосульфатом, ПОЛ – пероксидное окисление липидов, ЭПР – электронный парамагнитный резонанс.

зованию нестабильных (радикальных) частиц других веществ [7]. Окислительно-восстановительная способность антиоксидантов может, таким образом, приводить к накоплению свободно-радикальных частиц, токсичных в больших количествах. Такой эффект антиоксидантов, связанный с негативным действием на клетку, впервые был описан в работе [8] и назван «антиоксидантный стресс». Таким образом, антиоксиданты оказывают не только положительное воздействие, но также могут проявлять негативный эффект [9]. Антиоксидантный стресс как результат прооксидантных и, вероятно, вредных эффектов антиоксиданта может вызывать патологические изменения в органах и тканях животных и людей. Вопрос о том, какие условия могут привести к антиоксидантному стрессу, остается открытым. Ряд исследований витаминов С, Е, А, каротина, селена с антиоксидантным статусом, включающих рандомизированные контролируемые исследования и экспериментальные данные по животным и людям в норме и при наличии хронических заболеваний, либо не показали значительных изменений, либо оказывали вредное воздействие на биологическую систему и в некоторых случаях повышали уровень смертности среди испытуемых [10–14]. При этом показано что экзогенные источники пищевых антиоксидантов растительного происхождения могут благотворно влиять на здоровье человека [14–16].

Между тем понятие «антиоксидантный стресс» для растений не столь широко используется в литературе [17], как для людей и животных. Достоверно не установлено, какова в общем «полезность» растительных антиоксидантов для организма [14, 18]. Свободные радикалы, образованные в результате прооксидантной активности антиоксидантов полифенольного ряда — флавоноидов, антоцианов и каротиноидов [19–21] — могут вызывать антиоксидантный стресс, а также повреждение ДНК и мутации, и приводить к апоптотической гибели клеток. Увеличению прооксидантного потенциала полифенолов способствует их концентрация, высокий уровень pH среды, наличие ионов переходных металлов [19–22]. Так, феноксильные радикалы, образующиеся в результате окислительно-восстановительных реакций растительных антиоксидантов, могут провоцировать пероксидное окисление липидов, в том числе и за счет участия металлов, в частности, железа [20, 21, 23]. Для нейтрализации реакционной способности железа и транспортировки его в безопасной форме в органах и тканях растения используются комплексы железа с оксидом азота (NO) [24]. Однако роль нитрозильных комплексов железа в NO-зависимом апоптозе клетки до конца не ясна.

Предполагается, что совместное действие антиоксидантов будет выключать реактивность ра-

дикальных антиоксидантных частиц, образованных в результате нейтрализации АФК [25, 26].

С целью исследования антиоксидантного стресса у растений, а также понимания путей антиоксидантно-прооксидантного действия фенольных соединений, проведено исследование взаимодействия антиоксидантов — растительного полифенола ресвератрола и донора оксида азота серанитрозильного комплекса железа с тиосульфатом $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ТНКЖ-тио), и их совместного действия на митохондрии эпикотилей проростков гороха.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ТНКЖ-тио — кристаллический водорастворимый донор оксида азота натрий- μ 2-дитиосульфатотетранитрозилдиферрат тетрагидрат ($[\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4]_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$) был синтезирован в Институте проблем химической физики РАН (Черноголовка, Московская обл.). Генерация NO и образование моонитрозильного интермедиата и частицы $[\text{Fe}(\text{S}_2\text{O}_3)]$ из ТНКЖ-тио начинается только через 40 мин после растворения комплекса [27]. Семена гороха сорта Немчиновский 100 промывали мыльной водой и 0.01% KMnO_4 . От KMnO_4 семена тщательно промывали дистиллированной водой. Затем контрольные семена замачивали в воде, опытные семена — в 10^{-8} М и 10^{-4} М ТНКЖ-тио в течение 1 ч. После этого семена переносили на влажную фильтровальную бумагу, где они находились в темноте в течение 7 суток. Затем выделяли митохондрии из эпикотилей гороха методом дифференциального центрифугирования в калий-фосфатном буфере. Для приготовления образца митохондрии разбавляли в среде выделения таким образом, чтобы содержание белка в конечном растворе составляло 2 мг/мл.

Ресвератрол в концентрациях $2 \cdot 10^{-5}$ М, 10^{-6} М и 10^{-8} М добавляли в готовые образцы митохондрий.

Микровязкость липидного бислоя мембран определяли методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спиновых зондов. В качестве зонда использовали стабильные нитроксильные радикалы 2,2,6,6-тетраметил-4-каприлоилоксилпиперидин-1-оксил (зонд I) и 5,6-бензо-2,2,6,6-тетраметил-1,2,3,4-тетрагидро- γ -карболин-3-оксил (зонд II), синтезированные в Институте химической физики им. Н.Н. Семенова РАН (Москва) (рис. 1).

В работе [28] показано, что зонд I преимущественно локализуется в поверхностном бислое липидных компонент мембраны, а зонд II — в липидах бислоя, прилегающих к белкам, что позволяет по поведению зондов I и II в липидном бислое судить о липид-белковых взаимодействиях в

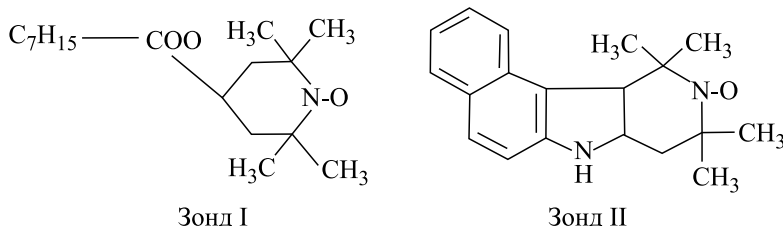


Рис. 1. Структурные формулы использованных ЭПР-зондов.

мембранах. Для удобства изложения мы в последующем будем называть зонд I «липидным», а зонд II – «белковым».

Из полученных спектров ЭПР рассчитывали время корреляции вращательной подвижности (τ_c), характеризующее микровязкость компонентов мембраны, по приведенной в работе [29] формуле $\tau_c = 6.65 \cdot 10^{-10} \cdot \Delta H_+ \cdot ((I_+/I_-)^{0.5} - 1)$, где ΔH_+ – ширина низкочастотной линии, I_+ – интенсивность низкочастотной линии, I_- – интенсивность высокочастотной линии. Регистрацию спектров ЭПР проводили в диапазоне температур 285–305 K (10–44°C) на радиоспектрометре ER 200D-SRC фирмы Bruker (США).

Каждый опыт повторяли три-пять раз, исходя из чего рассчитывали погрешность измерений с учетом неточности измерения ширины линий. Статистическую обработку данных осуществляли методами параметрической статистики с использованием пакетов компьютерных программ Microsoft® Excel и Origin® 6.1 при статистической надежности 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было показано [30], что донор NO ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-8} М сдвигал термоиндуцированные структурные переходы в прибелковых областях мембран митохондрий в сторону более низких температур (на 6 K) (рис. 2б). Подобный сдвиг, но в меньшей степени (на 3 K), наблюдался также и в липидных областях мембран (рис. 2а). Такие сдвиги указывают на уменьшение степени «кристалличности» мембран. ТНКЖ-тио в дозе 10^{-4} М на всем исследованном температурном интервале приводил к резкому уменьшению микровязкости липидной фазы митохондриальных мембран, которая не зависела от температуры (рис. 2а). Такое состояние мембран характерно, например, при патологиях [31], т.е. ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-4} М проявлял токсическое действие на митохондрии [32]. Считается, что оксид азота NO в малых физиологических концентрациях ($<10^{-6}$ М) обладает цитопротекторным действием, выступая в качестве регуляторного агента и проявляя, в том числе, антиоксидантные свойства [3, 33–35]. В больших

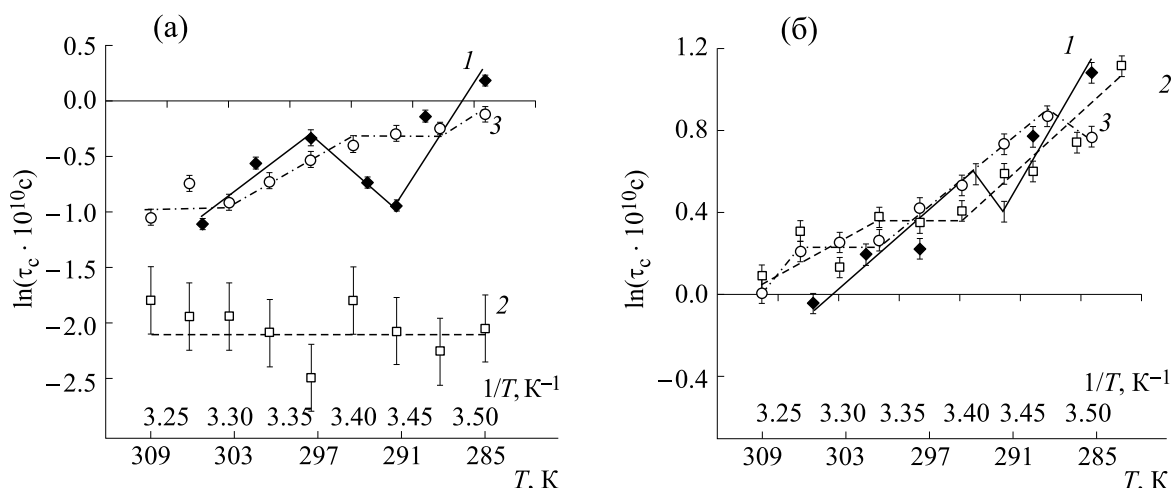


Рис. 2. Температурная зависимость микровязкости мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, в аррениусовских координатах ($\ln \tau_c$ от $1/T$, для удобства указана T) при использовании липидного зонда (а) и при белкового зонда (б): 1 – данные контрольной группы, 2 – при воздействии ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-4} М, 3 – при воздействии ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-8} М.

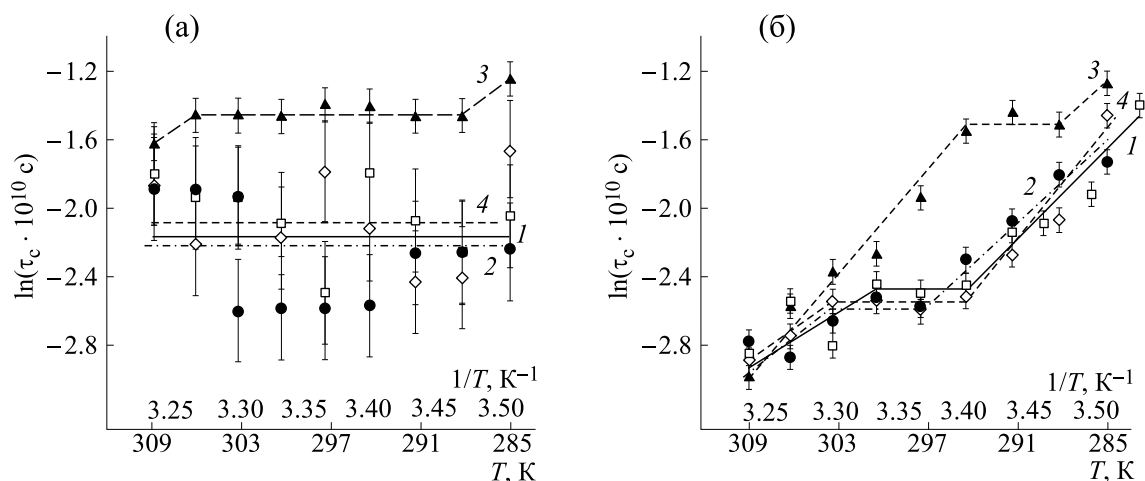


Рис. 3. Действие ресвератрола на температурную зависимость микровязкости мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, в аррениусовских координатах ($\ln \tau_c$ от $1/T$, для удобства указана T) в присутствии ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-4} M при использовании липидного зонда (а) и при белкового зонда (б): 1 — без ресвератрола, 2 — при воздействии ресвератрола в дозе $2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, 3 — при воздействии ресвератрола в дозе 10^{-6} M , 4 — при воздействии ресвератрола в дозе 10^{-8} M .

концентрациях ($>10^{-6} \text{ M}$) NO оказывает цитотоксическое действие, инициируя, например, пероксидное окисление липидов путем образования пероксинитрита ONOO^- [35], или приводит к разрушению мембран органелл и последующей гибели клеток [36]. Чрезвычайно низкое значение микровязкости липидной фазы мембран под действием ТНКЖ-тио в дозе 10^{-4} M (рис. 2а) могло быть вызвано несколькими механизмами. Во-первых, антиоксидантная активность NO, высвобождающегося из ТНКЖ-тио, могла привести одновременно к снижению дыхательных процессов [37] и к накоплению большого количества ненасыщенных липидов, а тем самым — к увеличению проницаемости мембран для всех видов ионов. Вслед за катионами калия и натрия и анионом хлора в матрикс митохондрий проникает вода [37]. В результате этих процессов происходит набухание митохондрий и, следовательно, уменьшение плотности упаковки липидов в мембране. Во-вторых, те же процессы могли вызвать настолько сильное набухание митохондрий, что могло привести к разрыву мембран митохондрий [36]. В-третьих, NO в высокой концентрации мог проявлять прооксидантные свойства путем ингибирования каталазы [35] или образования пероксинитрита [38]. Увеличение количества АФК могло привести к окислительному стрессу и сильному ускорению процессов пероксидного окисления липидов (ПОЛ). Высокий уровень ПОЛ митохондриальных мембран мог приводить к накоплению диеновых конъюгатов и других продуктов окисления, в результате этого — к нарушению структурированности липидного бислоя или

разрушению мембран. Нельзя также исключать и токсическое действие атома металла в железосодержащем комплексе ТНКЖ-тио.

С целью выяснения причин резкого увеличения текучести липидной фазы мембран при воздействии высокой концентрации ТНКЖ-тио (рис. 2а) было исследовано действие ресвератрола в различных концентрациях на структуру мембран митохондрий эпикотилей проростков гороха, обработанных ТНКЖ-тио.

Ресвератрол в концентрации 10^{-6} M приводил к увеличению микровязкости как липидной, так и белковой фазы мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, обработанных 10^{-4} M ТНКЖ-тио (рис. 3). По-видимому, ресвератрол в концентрации 10^{-6} M уменьшает уровень ПОЛ, вызванный ТНКЖ-тио, вследствие чего появляется структурированность липидной фазы бислоя. При этом в липидной фазе (рис. 3а) проявляется тенденция к слабой зависимости времени корреляции вращательной диффузии от температуры, в отличие от контроля. Таким образом, антиоксидантная активность ресвератрола в концентрации 10^{-6} M частично компенсировала токсическое действие ТНКЖ-тио в дозе 10^{-4} M , а значит, NO в этом случае вероятнее всего проявлял прооксидантные свойства. Ресвератрол в концентрации 10^{-8} M практически не влиял на структурное состояние мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, обработанных ТНКЖ-тио 10^{-4} M (рис. 3). Вероятно, данной концентрации ресвератрола недостаточно, чтобы погасить

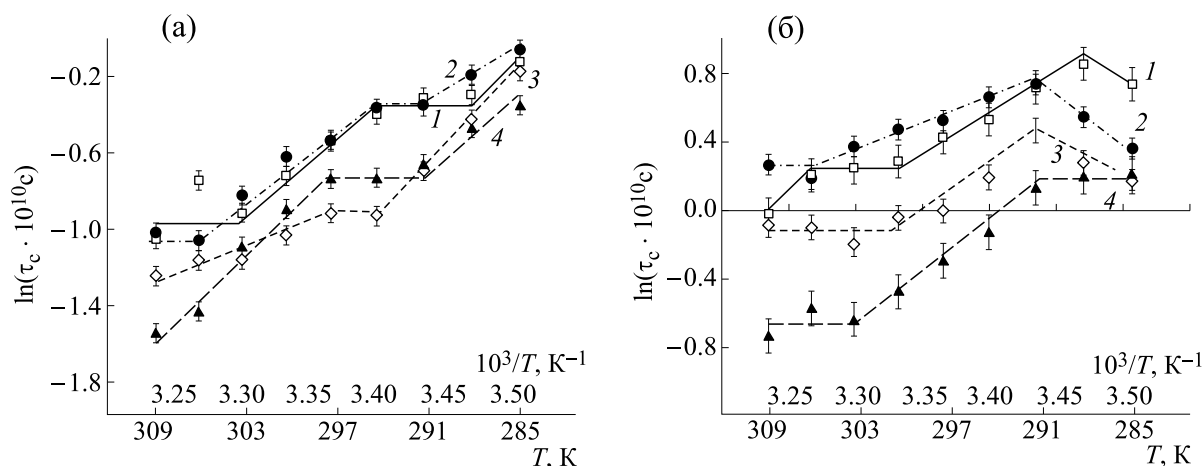


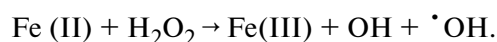
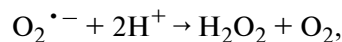
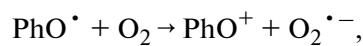
Рис. 4. Действие ресвератрола на температурную зависимость микровязкости мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, в арениусовских координатах ($\ln \tau_c$ от $1/T$, для удобства указана T) в присутствии ТНКЖ-тио в концентрации 10^{-8} М при использовании липидного зонда (а) и при белкового зонда (б): 1 — без ресвератрола, 2 — при воздействии ресвератрола в дозе $2 \cdot 10^{-5}$ М, 3 — при воздействии ресвератрола в дозе 10^{-6} М, 4 — при воздействии ресвератрола в дозе 10^{-8} М.

уровень ПОЛ, вызванный высокой концентрацией ТНКЖ-тио, так как концентрация ресвератрола на несколько порядков ниже.

Совершенно другая картина наблюдалась при действии ресвератрола на структуру мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, обработанных 10^{-8} М ТНКЖ-тио (рис. 4). Из рис. 4 видно, что кривые 3 и 4 лежат ниже кривой 1, т.е. ресвератрол в концентрациях 10^{-6} и 10^{-8} М снижал микровязкость обеих областей мембран митохондрий, тогда как в норме обычно эти изменения разнонаправлены. Одновременное снижение микровязкости при белковой и липидной фаз говорит о нарушениях связей в системе регуляции ПОЛ мембран [39, 40]. По-видимому, в данном случае ресвератрол увеличивает антиоксидантную активность малой физиологической дозы донора оксида азота NO, приводя тем самым к антиоксидантному стрессу.

Особое внимание следует уделить действию ресвератрола в дозе $2 \cdot 10^{-5}$ М. Данная концентрация ресвератрола практически не влияла на микровязкость мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, обработанных ТНКЖ-тио как в дозе 10^{-8} М (рис. 4), так и в дозе 10^{-4} М (рис. 3). По-видимому, из-за слишком большой концентрации ресвератрол проявлял как антиоксидантные, так и прооксидантные свойства, которые гасили друг друга. Прооксидантные свойства полифенолов могут быть вызваны взаимодействием с железом, содержащим-

ся в ТНКЖ-тио или ферментах дыхательной цепи, в реакциях по типу реакции Фентона:



Ресвератрол в концентрации $2 \cdot 10^{-5}$ М практически не влиял на структуру мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха и обработанных ТНКЖ-тио в обеих исследованных концентрациях, лишь немного сдвигая термоиндуцированные структурные переходы в липидном бислое в область более высоких температур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Действие ТНКЖ-тио в большой концентрации (10^{-4} М) приводил к нарушению структурного состояния мембран митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, что проявлялось в резком уменьшении микровязкости липидной фазы, до состояния характерного при патологиях [31]. Антиоксидантная активность ресвератрола в дозе 10^{-6} М частично компенсировала токсическое действие ТНКЖ-тио в большой концентрации. Следовательно, в этом случае токсическое действие вероятнее всего связано с проявлением прооксидантных свойств вы-

соких концентраций NO, высвобождаемых из ТНКЖ-тио.

Воздействие ресвератрола в дозах 10^{-6} М и 10^{-8} М на мембраны митохондрий, выделенных из эпикотилей проростков гороха, обработанных 10^{-8} М ТНКЖ-тио, приводило к нарушению связей в системе регуляции ПОЛ мембран, что проявлялось в однонаправленном уменьшении микровязкости липидной и приобелковой фазы, т.е. присутствие ресвератрола в данном случае вызывало антиоксидантный стресс.

Действие ресвератрола в дозе $2 \cdot 10^{-5}$ М носило, по-видимому, двойственный характер. Антиоксидантный и прооксидантный эффекты гасили друг друга, в результате чего данная доза полифенола практически не повлияла на структурное состояние мембран митохондрий.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1201253310).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Н. Е. Фомченко, Е. В. Воропаев, А. В. Скачков и Н. Ю. Затора, Проблемы здоровья и экологии, **4**, 8 (2015). DOI: 10.51523/2708-6011.2015-12-4-2
2. C. Villanueva and R. D. Kross., Int. J. Mol. Sci., **13**, 2091 (2012). DOI: 10.3390/ijms13022091
3. F. Groß, J. Durner, and F. Gaupels, Front. Plant Sci., **4**, 419 (2013). DOI: 10.3389/fpls.2013.00419
4. Y. Chen, J. Li, J. Wei, et al., J. Hazard Mater., **321**, 888 (2017). DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.10.010
5. A. Samuni and J. Arontovich, Eur. J. Biochem. **137**, 119 (1983).
6. V. A. Timoshnikov, T. V. Kobzeva, N. E. Polyakov, and G. J. Kontoghiorghes, Int. J. Mol. Sci., **21**, 3967 (2020). DOI: 10.3390/ijms21113967
7. E. Damiani, P. Astolfi, P. Carloni, et al., Antioxidants, **8**, 251 (2008). DOI: 10.3390/antiox8080258
8. Y. Dundar and R. Aslan, East. J. Med., **5** (2), 45 (2000).
9. B. Poljsak and I. Milisav, Oxid. Med. Cell. Longev., **2012**, ID 480895 (2012). DOI: 10.1155/2012/480895
10. G. Bjelakovic, D. Nikolova, R. G. Simonetti, and C. Glud, Lancet, **364** (9441), 1219 (2004). DOI: 10.1016/S0140-6736(04)17138-9
11. E. R. Miller, R. Pastor-Barriuso, D. Dalal, et al., Ann. Int. Med., **142** (1), 37 (2005). DOI: 10.1016/j.accreview.2005.04.017
12. I. D. Podmore, H. R. Griffiths, K. E. Herbert, et al., Nature, **392** (6676), 559 (1998). DOI: 10.1038/33308
13. P. Palozza, Nutr. Rev., **56** (9), 257 (1998). DOI: 10.1111/j.1753-4887.1998.tb01762.x
14. B. Salehi, M. Martorell, J. L. Arbiser, et al., Biomolecules, **8** (4), 124 (2018). DOI: 10.3390/biom8040124
15. S. Kumar and A. K. Pandey, Sci. World J., **2013**, ID 162750 (2013). DOI: 10.1155/2013/162750
16. R. Sotler, B. Poljšak, R. Dahmane, et al., Acta Clin. Croat., **58** (4), 726 (2019). DOI: 10.20471/acc.2019.58.04.20
17. Z. Lei, S. Mingyu, W. Xiao, et al., Biol. Trace Elem. Res., **121**, 69 (2008). DOI: 10.1007/s12011-007-8028-0
18. B. Halliwell, Cardio. Res., **73** (2), 341 (2007). DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.10.004
19. D. Ribeiro, M. Freitas, A. M. S. Silva, et al., Food Chem. Tox., **120**, 681 (2018). DOI: 10.1016/j.fct.2018.07.060
20. Y. Sakihama, M. F. Cohen, S. C. Grace, and H. Yamasaki, Toxicology, **177** (1), 67 (2002). DOI: 10.1016/S0300-483X(02)00196-8
21. S. Eghbaliferiz and M. Iranshahi, Phytother. Res., **30** (9), 1379 (2016). DOI: 10.1002/ptr.5643
22. M. Olszowy, J. Pl. Phys. Biochem., **144**, 135 (2016). DOI: 10.1016/j.plaphy.2019.09.039
23. G. Agati, E. Azzarello, S. Pollastri, and M. Tattini, Plant Sci., **196**, 67 (2012). DOI: 10.1016/j.plantsci.2012.07.014
24. L. Ramirez, M. Simontacchi, I. Murgia, et al., Plant Sci., **181** (5), 582 (2011). DOI: 10.1016/j.plantsci.2011.04.006
25. W. Siems, C. Salerno, C. Crifo, et al., Forum Nutr., **61**, 75 (2009). DOI: 10.1159/000212740
26. C. Liu, R. M. Russell, and X. D. Wang, J. Nutr., **134**, 426 (2004). DOI: 10.1093/jn/134.2.426
27. Н. А. Санина и С. М. Алдошин, Изв. РАН. Сер. хим., **7**, 1199 (2011).
28. В. И. Бинюков, С. Ф. Борунова, М. Г. Гольдфельд и др., Биохимия, **36** (6), 1149 (1971)
29. А. М. Вассерман, А. Л. Бучаченко, А. Л. Коварский и И. Б. Нейман, Высокомолекуляр. соединения, **10A**, 1930 (1968)
30. Н. Ю. Герасимов, О. В. Неврова, И. В. Жигачева и др., в сб. тезисов *Физиология растений и феномика как основа современных биотехнологий* (ННГУ, Н. Новгород, 2022), с. 42.
31. А. Н. Голощапов и Е. Б. Бурлакова, Биофизика, **25** (1), 97 (1980).
32. И. В. Жигачева, Н. И. Крикунова, И. П. Генерозова и др., Биофизика, **67** (4), 671 (2022).
33. J. Sang, M. Jiang, F. Lin, et al., J. Integr. Plant Biol., **50**, 231 (2008). DOI: 10.1111/j.1744-7909.2007.00594.x

34. Y. V. Karpets, Y. E. Kolupaev, and T. O. Yastreba, Russ. J. Plant Physiol., **58**, 1027 (2011). DOI: 10.1134/S1021443711060094
35. M. Hasanuzzaman, K. Nahar, M. M. Alam, and M. Fujita, Aust. J. Agric. Res., **6**, 1314 (2012).
36. V. Casolo, E. Petrucci, J. Krajňáková, et al., *J. Exp. Bot.*, **56** (413), 997 (2005). DOI: 10.1093/jxb/eri093
37. О. С. Сергеев, Л. И. Уксусова, В. В. Сапрыкин и др., *Типовые патологические процессы. Воспаление. Лихорадка. Повреждение клетки* (СамГМУ, Самара, 2004).
38. R. S. Seymour, Biosci. Rep., **21** (2), 223 (2001). DOI: 10.1023/A:1013608627084
39. С. А. Аристархова, Г. В. Архипова, Е. Б. Бурлакова и др., ДАН СССР, **228**, 215 (1976).
40. Е. Б. Бурлакова и Н. Г. Храпова, Успехи химии, **54** (9), 540 (1985).

The Effect of the Antioxidant System Resveratrol – Iron Sulfonitrosyl Complex Sodium- μ 2-Dithiosulphate-Tetranitrosyl Diferrate Tetrahydrate on the Mitochondria of Pea Germ Epicotyls *in vitro*

N.Yu. Gerasimov*, O.V. Nevrova*, I.V. Zhigacheva*, I.P. Generozova**, and A.N. Goloshchapov*

*Emmanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

**Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Botanicheskaya ul. 35, Moscow, 127276 Russia

The interaction of antioxidants – plant polyphenol resveratrol and nitric oxide donor, iron-sulfo-nitrosyl complex with thiosulfate $\text{Na}_2[\text{Fe}_2(\text{S}_2\text{O}_3)_2(\text{NO})_4] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (TNIC-thio), and their combined action on mitochondria of pea germ epicotyls was studied *in vitro*. The antioxidant activity of resveratrol (10^{-6} M), partially compensated the toxic effect of TNIC-thio at high concentration, that is most likely associated with the exhibition of the prooxidant properties of high concentrations of the nitric oxide donor. The effect of resveratrol at concentrations 10^{-6} M and 10^{-8} M on the membranes of mitochondria isolated from the pea germ epicotyls treated with 10^{-8} M TNIC-thio led to coordinations failure in the system of regulation of lipid peroxidation of membranes, that caused antioxidant stress. The action of resveratrol at the dose of $2 \cdot 10^{-5}$ M had a dual character and practically did not effect on the structural state of mitochondrial membranes.

Keywords: mitochondria membrane structure, membrane microviscosity, polyphenol, nitric oxide donor, antioxidant stress