

9-20-2019

EFFECT OF FRUIT AND PEEL EXTRACT OF SOME LOCAL POMEGRANATE (PUNICA GRANATUM L.) VARIETIES ON THE IONIC TRANSPORT SYSTEMS OF THE LIVER MITOCHONDRIA

Farogat Sheralievna Ergasheva
Gulistan State University, Ergasheva_fsh@bk.ru

Mamurjon Komiljonovich Pozilov
Mirzo Ulugbek Institute of Biophysics and Biochemistry at the National University of Uzbekistan

Shunkor Sadullaevich Khushmatov
Mirzo Ulugbek Institute of Biophysics and Biochemistry at the National University of Uzbekistan

Habib Kushiev
Gulistan State University

Follow this and additional works at: <https://uzjournals.edu.uz/gulduvestnik>

 Part of the [Higher Education Administration Commons](#)

Recommended Citation

Ergasheva, Farogat Sheralievna; Pozilov, Mamurjon Komiljonovich; Khushmatov, Shunkor Sadullaevich; and Kushiev, Habib (2019) "EFFECT OF FRUIT AND PEEL EXTRACT OF SOME LOCAL POMEGRANATE (PUNICA GRANATUM L.) VARIETIES ON THE IONIC TRANSPORT SYSTEMS OF THE LIVER MITOCHONDRIA," *Bulletin of Gulistan State University*. Vol. 2019 : Iss. 3 , Article 2.
Available at: <https://uzjournals.edu.uz/gulduvestnik/vol2019/iss3/2>

This Article is brought to you for free and open access by 2030 Uzbekistan Research Online. It has been accepted for inclusion in Bulletin of Gulistan State University by an authorized editor of 2030 Uzbekistan Research Online. For more information, please contact sh.erkinov@edu.uz.

УДК: 576.32.36(045)

**АЙРИМ МАҲАЛЛИЙ АНОР НАВЛАРИ (*PUNICA GRANATUM* L.) МЕВАСИ ВА ПЎСТИ
ЭКСТРАКТИНИНГ ЖИГАР МИТОХОНДРИЯСИ ИОН-ТРАНСПОРТ
ТИЗИМЛАРИГА ТАЪСИРИ**

**EFFECT OF FRUIT AND PEEL EXTRACT OF SOME LOCAL POMEGRANATE (*PUNICA
GRANATUM* L.) VARIETIES ON THE IONIC TRANSPORT SYSTEMS OF
THE LIVER MITOCHONDRIA**

**ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ И ЦЕДРЫ НЕКОТОРЫХ МЕСТНЫХ СОРТОВ ГРАНАТА
(*PUNICA GRANATUM* L.) НА ИОННО-ТРАНСПОРТНЫЕ СИСТЕМЫ МИТОХОНДРИИ
ПЕЧЕНИ**

**Эргашева Фароғат Шералиевна¹, Позиллов Маъмуржон Комилжонович²,
Хушматов Шунқор Саъдуллаевич², Ҳабиб Қўшиев¹**

¹ Гулистон давлат университети, 120100. Сирдарё вилояти, Гулистон шаҳри, 4-мавзе,
² Мирзо Улугбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги Биофизика ва
биокимё институти, 100174. Тошкент шаҳри, Талабалар шаҳарчаси, 174-уй

E-mail: Ergasheva_fsh@bk.ru

Abstract

In the following research it was determined that extracts (100 µg/ml) of fruit and peel of some local varieties («Qora Qayim», «Qizil anor», «Oq dona/tuyatish», «Achchiq dona») of pomegranate (*Punica granatum* L.) grown in the Syrdarya region of Mirzachul oasis of the Republic of Uzbekistan, *in vitro* have an inhibitory effect on the functional activity of the megacanal (mitochondrial permeability transition pore – *mPTP*) associated with Ca²⁺ in the mitochondria of the rat liver. It was determined that under the influence of Ca²⁺ (50 µM) extracts (100 µg/ml) of pomegranate fruit «Qora Qayim», «Qizil anor», «Oq dona/tuyatish», «Achchiq dona» in comparison with the control decelerates the wet mitochondria on 64,3±4,8; 78,5±6,4; 74,2±5,3 and 85,6±4,5%, respectively, during the next series of experiments, it was determined that the peel extracts (100 µg/ml) of pomegranate varieties «Qora Qayim», «Qizil anor», «Oq dona/tuyatish», «Achchiq dona» reduce this indicator in comparison with control to 76,8±5,2; 53,4±3,8; 84,2±6,5 and 70,4±5,5% respectively. The results obtained in the future can be used to clarify the mechanisms of pharmacological influence of extracts of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit and peel.

Keywords: pomegranat (*Punica granatum* L.), extract, hepatocyte, mitochondria, Ca²⁺ dependant mega-channel (*mPTP*).

Аннотация

В данном исследовании установлено, что экстракты плодов и цедры (100 мкг/мл) некоторых местных сортов («Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона») граната (*Punica granatum* L.), выращиваемые на территории Сырдарьинской области Мирзачульского оазиса Республики Узбекистан, в условиях *in vitro* оказывают ингибирующее влияние на функциональную активность мегаканала (mitochondrial permeability transition pore – *mPTP*), связанную с Ca²⁺, в митохондриях печени крыс. Было установлено, что под влиянием Ca²⁺ (50 мкМ) экстракты (100 мкг/мл) плодов граната «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона» по сравнению с контролем замедляет намокание митохондрии на 64,3±4,8; 78,5±6,4; 74,2±5,3 и 85,6±4,5% соответственно, также во время следующей серии экспериментов было установлено, что экстракты (100 мкг/мл) цедры сортов граната «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона» снижают этот показатель по сравнению с контролем на 76,8±5,2; 53,4±3,8; 84,2±6,5 и 70,4±5,5% соответственно. Полученные результаты в перспективе могут быть использованы для выяснения механизмов

***GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI AXBOROTNOMASI,**
Tabiiy va qishloq xo'jaligi fanlari seriyasi. 2019. № 3*

фармакологического действия экстракта плода и цедры граната (*Punica granatum* L.).

Ключевые слова: гранат (*Punica granatum* L.), экстракт, гепатоцит, митохондрия, Ca^{2+} зависимый мегаканал (*mPTP*).

Анор (*Punica granatum* L.) кишилик цивилизациясида қадимдан озиқ-овқат ва тиббиёт мақсадларида, шунингдек манзарали ўсимлик тури сифатида фойдаланилиб келинган экспорт ва импорт нуқтаи назаридан иқтисодий жиҳатдан қимматли мевалардан бири ҳисобланади [1]. Анор меваси ва пўсти халқ табобатида овқат-ҳазм қилиш тизимида паразитларни йўқотиш, яллиғланишга қарши, патоген инфекцияларга қарши восита сифатида ва нафас олиш тизими касалликларини даволаш мақсадларида фойдаланилади [2]. Амалга оширилган тадқиқотларда *in vivo* ва *in vitro* шароитида тажриба ҳайвонларида анор мевасидан ажратиб олинган бирикмалар комплекси сезиларли даражада антиканцероген, антитоксик, антигипоксанти, кардиопротектор, антигипертензив таъсир кўрсатиши аниқланган [3]. Айрим тадқиқотчилар томонидан анор (*Punica granatum* L.) меваси ва уруғининг кимёвий таркиби, таркибидаги биологик фаол моддаларнинг физиологик, фармако-токсикологик таъсири батафсил тавсифланган [3]. Жумладан, анор (*Punica granatum* L.) меваси ва уруғи таркибидан ажратиб олинган биологик фаол моддалар кенг спектрда таъсир фаоллигига эгаллиги – антиоксидант, антиканцероген, антимутаген, яллиғланишга қарши, шунингдек хужайраларда PI_3K/AKT , $mTOR$, PI_3K , $Vcl-X$, Vax , $MAPK$, $ERK1/2$, $P38$, JNK ва каспаза сигнал трансдукция тизимлари орқали апоптозни тормозловчи, ферментлар (циклооксигеназа, липооксигеназа, фосфолипаза A_2 , декарбоксилаза, дегидрогеназа, протеаза ва бошқ.) фаоллиги модуляторлари сифатида таъсир фаоллигига эгаллиги қайд қилинган [3].

Маълумки, биологик организм тўқима хужайраларида энергия биотрансформациясида, шунингдек меъёрий физиологик ва патологик шароитларида апоптоз ва хужайра даражасида амалга ошувчи бошқа муҳим функционал жараёнларда митохондриялар муҳим аҳамиятга эга органеллалардан бири ҳисобланади. Айрим муаллифлар ишларида митохондриянинг структура ва функцияси, ион-транспорт тизимлари ҳақида батафсил маълумотлар келтирилган [4, 5]. Биологик организм биоэнергетик тизими структура функцияси турли хил тўқима хужайраларида митохондриялар меъёрий функцияси билан боғлиқ бўлиб, фармакологик агентларнинг терапевтик таъсир механизмларидан бири – айнан, митохондрия ион-транспорт тизимларидан (Ca^{2+} га боғлиқ мегаканал (*mPTP* – *mitochondrial permeability transition pore*) ва бошқ.) ташкил топади [6, 7].

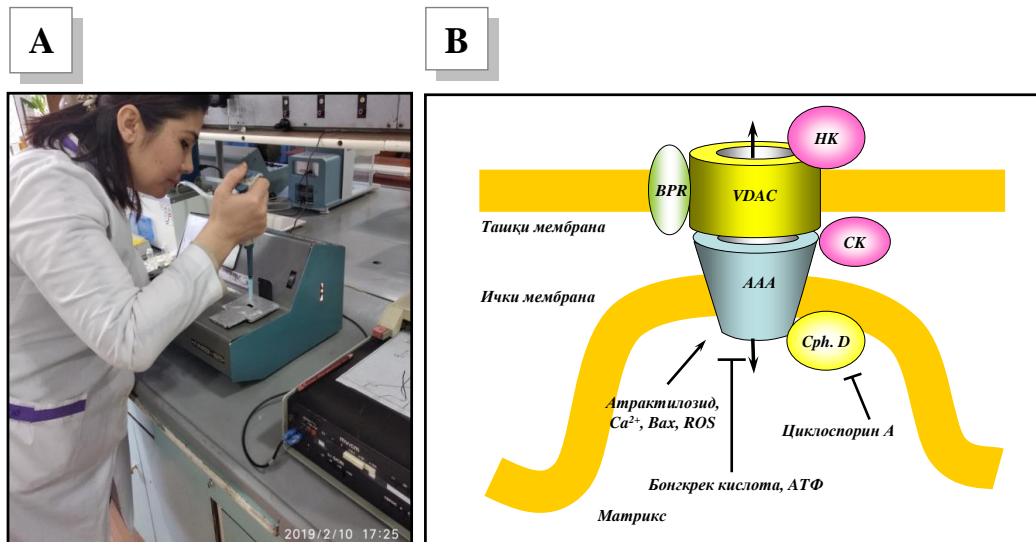
Ушбу тадқиқотнинг мақсади – Ўзбекистон Республикаси Мирзачўл воҳасининг Сирдарё вилояти худудида етиштирилладиган анорнинг (*Punica granatum* L.) айрим маҳаллий навлари («Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона») меваси ва пўсти экстрактининг *in vitro* шароитида каламуш жигаридан ажратиб олинган митохондрияда *mPTP* функционал фаоллигига таъсирини ўрганишдан ташкил топган.

Тадқиқот объекти ва қўлланилган методлар

Тажрибаларда тана вазни 180–200 г оқ, зотсиз каламушлардан (эркак) фойдаланилди. Тажриба ҳайвонлари устида илмий тадқиқотлар ўтказиш Мирзо Улуғбек номидаги ЎзМУ хузуридаги Биофизика ва биокимё институтининг «Илмий тадқиқот ишларида лаборатория ҳайвонларидан фойдаланиш тартиби тўғрисидаги биоэтика низоми» (22.02.2019 й.) қоидалари асосида амалга оширилди. Тажриба ҳайвонлари жигаридан митохондрияларни ажратиб олиш стандарт услуб ёрдамида амалга оширилди [8].

***GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI AXBOROTNOMASI,**
Tabiiy va qishloq xo'jaligi fanlari seriyasi. 2019. № 3*

Митохондрияни ажратишда фойдаланилган инкубация муҳитининг таркиби қуйидагича: сахароза (250 мМ); ТРИС–хлорид (10 мМ); ЭДТА (1 мМ) ($pH=7,4$). Шунингдек, *mPTP* ўтказувчанлигини таҳлил қилишда қуйидаги таркибга эга инкубация муҳитидан фойдаланилди: сахароза (200 мМ); ЭГТА (20 мкМ); сукцинат (5 мМ); ротенон (2 мкМ); 1 олигомицин (мкг/мл); ТРИС (20 мМ); НЕРЕС (20 мМ); KH_2PO_4 (1 мМ) ($pH=7,4$) [9] (1–расм).



1–расм. А. *In vitro* шароитда анор (*Punica granatum* L.) меваси ва пўсти экстрактининг биологик фаоллигини таҳлил қилиш жараёни (Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети хузуридаги Биофизика ва биокимёо институти Мембраналар биофизикаси лабораторияси; 2019 йил). Б. Митохондрия ион–транспорт тизимлари. Бу ерда: ЦсА–сезгир поранинг тузилиши. BPR – бензодиазепин рецептор, СК – креатинин киназа, НК – гексокиназа, VDAC – потенциалга боғлиқ анион канали (*mPTP*), Cph. D – циклофилин D. Турли индукторлар (атрактилозид, Ca^{2+} , Вах, кислороднинг реактив кўринишлари (ROS)) ва ингибиторлар – (циклоспорин А, бонгкрек кислота, АТФ).

Митохондрия суспензиясининг (0,3–0,4 мг/мл) бўқиш кинетикаси спектрофотометрик услубда, махсус кюветада (3 мл) 540 нм тўлқин узунлигида $+25\pm 0,5^\circ C$ ҳарорат шароитида оптик зичликни қайд қилиш асосида таҳлил қилинди. Митохондрияда оқсил миқдори Петерсон томонидан модификацияланган Лоури услуби ёрдамида аниқланди [10].

Тажриба натижалари стандарт биометрик услублар [11] бўйича, OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, АҚШ) махсус дастур пакети ёрдамида математик–статистик қайта ишланди. Тажриба натижалари гуруҳлар ўртасидаги қийматларнинг статистик ишонччилик даражаси Стьюдент *t*–мезони асосида ҳисобланди ва $p < 0,05$, $p < 0,01$ қийматларда статистик ишонччи деб баҳоланди.

Олинган натижалар ва уларнинг таҳлили

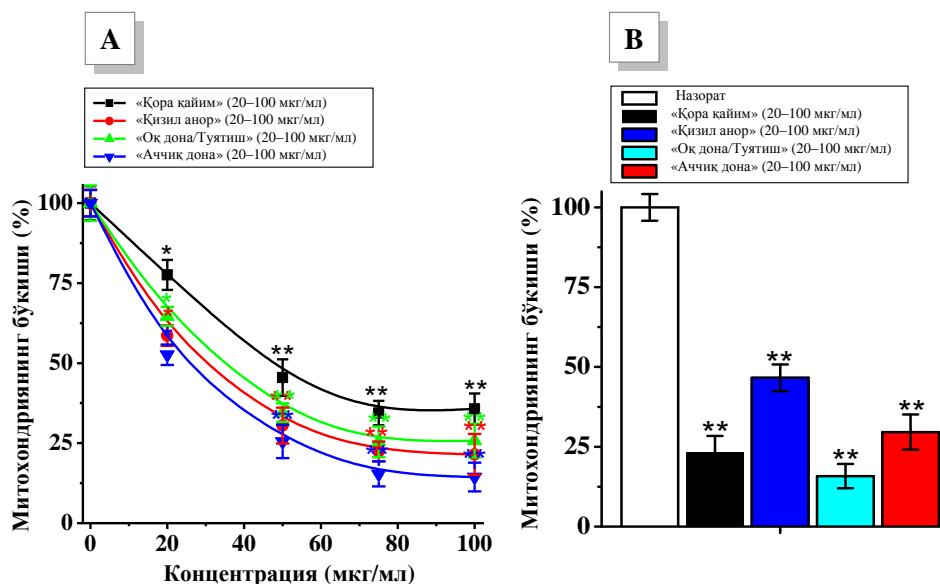
Тажрибаларда митохондрия бўқишини чақириш учун индуктор сифатида Ca^{2+} ионларини 50 мкМ концентрациясидан фойдаланилди. Инкубация муҳитида Ca^{2+} ионларини мавжуд шароитда *mPTP* ўтказувчанлик даражаси ортиши (очиқ ҳолатга ўтиш эҳтимоллиги даражаси ортиши) ҳисобига митохондрия суспензиясининг бўқиши амалга ошди. Бунда Ca^{2+} ионлари (50 мкМ) таъсирида бўқиш даражаси назорат гуруҳи сифатида белгиланди (100%). Ушбу шароитда маҳаллий анор (*Punica granatum* L.) навлари («Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона») меваси ва пўсти экстрактлари концентрацияга боғлиқ (20–100 мкг/мл) *mPTP* ўтказувчанлик даражасини сусайтириши аниқланди. Жумладан, «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона» анор навларининг меваси экстрактлари 100 мкг/мл концентрацияда Ca^{2+} (50 мкМ) таъсирида митохондрия бўқиш

***GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI AXBOROTNOMASI,**
Tabiiy va qishloq xo'jaligi fanlari seriyasi. 2019. № 3*

қийматини назоратга нисбатан мос равишда $64,3 \pm 4,8$; $78,5 \pm 6,4$; $74,2 \pm 5,3$ ва $85,6 \pm 4,5\%$ га сусайтириши аниқланди (2А–расм).

Шунингдек, тажрибаларнинг навбатдаги серияси давомида «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона» анор навларининг пўсти экстрактлари (100 мкг/мл) Ca^{2+} (50 мкМ) инкубацияси шароитида митохондрия бўқишини назоратга нисбатан мос равишда $76,8 \pm 5,2$; $53,4 \pm 3,8$; $84,2 \pm 6,5$ ва $70,4 \pm 5,5\%$ га сусайтириши аниқланди (2Б–расм).

Маълумки, мураккаб биокимёвий реакциялар каскадидан ташкил топган анаболизм/катаболизм жараёнида организмнинг биоэнергетик тизимида ҳужайранинг «куч станциялари» ҳисобланган митохондрияларда $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ миқдорининг меъёрий физиологик қийматдан ортиши, нафас занжири комплексларида кислороднинг фаол шакллари типидagi эркин радикаллар генерациясининг кучайиши, биологик мембраналар структураси асосини ташкил қилувчи липидларнинг пероксидли оксидланиши кучайиши бевосита, митохондрия ион–транспорт тизимлари, жумладан *mPTP* нинг фаолланиши ўз навбатида, мембрана потенциали камайиши, АТФ синтези каби дисфункциялар юзага келишига олиб келади. Айнан, ушбу шароитда *mPTP* ўтказувчанлигини сусайтирувчи агентлар муҳим терапевтик таъсирга эга биологик фаол моддалар сифатида ўрин тутади.



2–расм. А. «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона» анор навлари меваси экстрактларининг (100 мкг/мл) Ca^{2+} (50 мкМ) инкубацияси шароитида митохондрия бўқишига таъсири. Б. «Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона» анор навлари пўсти экстрактларининг (100 мкг/мл) митохондрия суспензиясининг бўқиш қийматига таъсири. (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; $n = 3-5$).

Тадқиқотларда анор (*Punica granatum* L.) меваси экстракти тажриба ҳайвонларида экспериментал заҳарланиш шароитида гепатопротектив таъсир кўрсатиши аниқланган [12]. Шунингдек, анор (*Punica granatum* L.) меваси ва уруғининг метанолли экстракти оксидланишли–стресс шароитида липидларнинг пероксидли оксидланишини сусайтириши ва ўз навбатида, митохондрия функциясини меъёрийлаштириши қайд қилинган [13].

Тажрибаларда анор (*Punica Granatum* L.) экстракти тажриба ҳайвонларида АМПК– Nrf_2 (АМПК–*nuclear erythroid 2 p45–related factor 2*) factor–сигнал трандукцияси реакциялар каскади орқали юрак–қон томир тизими ҳужайраларида митохондрия функционал фаоллигини меъёрийлаштириши ва ўз навбатида, ҳужайра биоэнергетикаси меъёрийлашиши, кислороднинг эркин радикаллари генерациясини сусайтириши (антиоксидант эффект) асосида антигипертензив таъсир кўрсатиши тахмин қилинган [14].

Хулоса

Шундай қилиб, амалга оширилган тажрибаларда Ўзбекистон Республикаси Мирзачўл воҳасининг Сирдарё вилояти худудида етиштирилаётган анорнинг (*Punica granatum* L.) айрим маҳаллий навлари («Қора қайим», «Қизил анор», «Оқ дона/туятиш», «Аччиқ дона») меваси ва пўсти экстрактлари (100 мкг/мл) *in vitro* шароитида каламуш жигаридан ажратиб олинган митохондрияларда Ca^{2+} (50 мкМ) инкубацияси шароитида Ca^{2+} га боғлиқ мегаканал (*mPTP*) функционал фаоллигига ингибирловчи таъсир кўрсатиши аниқланди. Олинган экспериментал натижалар истикболда анор (*Punica granatum* L.) меваси ва пўсти экстрактининг фармакологик таъсир механизмларини ойдинлаштиришда фойдаланилиши мумкин.

Адабиётлар:

1. Chandra R., Babu K.D., Jadhav V.T., Teixeira da Silva J.A. Origin, history and domestication of pomegranate // Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology. – 2010. – V. 4(2). – P.1–6.
2. Viuda-Martos M., Fernandez-Lopez J., Perez-Alvarez J.A. Pomegranate and its many functional components as related to human health: A review. // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. – 2010. – V.9. – P.635–654.
3. Rahimi H.R., Arastoo M., Ostad S.N. A comprehensive review of *Punica granatum* (*Pomegranate*) Properties in Toxicological, Pharmacological, Cellular and Molecular Biology Researches // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. – 2012. – V.11(2). – P.385–400.
4. Rasola A., Sciacovelli M., Pantic B., Bernardi P. Signal transduction to the permeability transition pore // FEBS Lett. – 2010. – V.584. – P.1989–1996.
5. Bachmann M., Costa R., Peruzzo R., Prosdociami E., Checchetto V., Leanza L. Targeting mitochondrial ion channels to fight cancer // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – V.19(2060). – P.1–25.
6. Halestrap A.P., Clarke S.J., Javadov S.A. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion – A target for cardioprotection // Cardiovasc. Res. – 2004. – V.61(3). – P.372–385.
7. Javadov S., Karmazyn M., Escobales N. Mitochondrial permeability transition pore opening as a promising therapeutic target in cardiac diseases // J. Pharm. Exp. Therap. – 2009. – V. 330(3). – P. 670–678.
8. Hageboom G.H., Schneider W.C., Pallade G.E. Cytochemical studies of mammalian tissues. I. Isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material // J. Biol. Chem. – 1948. – 172(2). – P.619–635.
9. He L., Lemasters J.J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver mitochondria // Biol. Chem. – 2003. – V.278(19). – P.16755–16760.
10. Peterson G.L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable // Analytical biochemistry. – 1977. – 83(2). – P. 346–356.
11. Лакин Г.Ф. Биометрия // Москва. – Изд-во «Высшая школа». – 1990. – С.23–284.
12. Bakir S., Yazgan U.C., Ibiloglu I., Elbey B., Kizil M., Kelle M. The protective effect of pomegranate extract against cisplatin toxicity in rat liver and kidney tissue // Arch. Physiol. Biochem. – 2015. – V.121(4). – P. 152–156.
13. Doostan F., Vafafar R., Zakeri-Milani P., Pouri A., Amini Afshar R., Abbasi M.M. Effects of pomegranate (*Punica Granatum* L.) seed and peel methanolic extracts on oxidative stress and lipid profile changes induced by methotrexate in rats // Adv. Pharm. Bull. – 2017. – V.7(2). – P.269–274.
14. Sun W., Yan C., Frost B., Wang X., Hou C., Zeng M., Gao H., Kang Y., Liu J. Pomegranate extract decreases oxidative stress and alleviates mitochondrial impairment by activating AMPK–Nrf₂ in hypothalamic paraventricular nucleus of spontaneously hypertensive rats // Scientific Reports. – 2016. – V.6:34246. – P.1–12.

References:

1. Chandra R., Babu K.D., Jadhav V.T., Teixeira da Silva J.A. Origin, history and domestication of pomegranate // Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology. – 2010. – V. 4(2). – P.1–6.
2. Viuda-Martos M., Fernandez-Lopez J., Perez-Alvarez J.A. Pomegranate and its many functional components as related to human health: A review. // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. – 2010. – V.9. – P.635–654.
3. Rahimi H.R., Arastoo M., Ostad S.N. A comprehensive review of *Punica granatum* (Pomegranate) Properties in Toxicological, Pharmacological, Cellular and Molecular Biology Researches // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. – 2012. – V.11(2). – P.385–400.
4. Rasola A., Sciacovelli M., Pantic B., Bernardi P. Signal transduction to the permeability transition pore // FEBS Lett. – 2010. – V.584. – P.1989–1996.
5. Bachmann M., Costa R., Peruzzo R., Prosdocimi E., Checchetto V., Leanza L. Targeting mitochondrial ion channels to fight cancer // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – V.19(2060). – P.1–25.
6. Halestrap A.P., Clarke S.J., Javadov S.A. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion – A target for cardioprotection // Cardiovasc. Res. – 2004. – V.61(3). – P.372–385.
7. Javadov S., Karmazyn M., Escobales N. Mitochondrial permeability transition pore opening as a promising therapeutic target in cardiac diseases // J. Pharm. Exp. Therap. – 2009. – V. 330(3). – P. 670–678.
8. Hageboom G.H., Schneider W.C., Pallade G.E. Cytochemical studies of mammalian tissues. I. Isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material // J. Biol. Chem. – 1948. – 172(2). – P.619–635.
9. He L., Lemasters J.J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver mitochondria // Biol. Chem. – 2003. – V.278(19). – P.16755–16760.
10. Peterson G.L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable // Analytical biochemistry. – 1977. – 83(2). – P. 346–356.
11. Lakim G.F. Biometria // Moscow. «Vysshaya shkola». – 1990. – P.23–284 (in Russian).
12. Bakir S., Yazgan U.C., Ibiloglu I., Elbey B., Kizil M., Kelle M. The protective effect of pomegranate extract against cisplatin toxicity in rat liver and kidney tissue // Arch. Physiol. Biochem. – 2015. – V.121(4). – P. 152–156.
13. Doostan F., Vafafar R., Zakeri-Milani P., Pouri A., Amini Afshar R., Abbasi M.M. Effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed and peel methanolic extracts on oxidative stress and lipid profile changes induced by methotrexate in rats // Adv. Pharm. Bull. – 2017. – V.7(2). – P.269–274.
14. Sun W., Yan C., Frost B., Wang X., Hou C., Zeng M., Gao H., Kang Y., Liu J. Pomegranate extract decreases oxidative stress and alleviates mitochondrial impairment by activating AMPK–Nrf₂ in hypothalamic paraventricular nucleus of spontaneously hypertensive rats // Scientific Reports. – 2016. – V.6:34246. – P.1–12.