

*L-Cys* и *L-Glu* в комплексе с *L-Cys* после действия стресса приводит к повышению супероксиддисмутазной активности в тканях почек и легких (вторая опытная группа), селезенки (вторая и третья опытные группы), миокарда (вторая, третья и четвертая опытные группы). Следует отметить повышение каталазной активности в тканях миокарда животных второй опытной группы, получавшей *L-Glu*. У животных, подвергавшихся воздействию стресса без применения вышеупомянутых аминокислот снижалась супероксиддисмутазная активность в тканях почек, селезенки, легких и миокарда и каталазная активность в тканях селезенки, легких и миокарда по сравнению с животными контрольной группы.

**Ключевые слова:** глутаминовая кислота, цистеин, антиоксидантная система, стресс.

N. Salyha, PhD, R. Iskra, DSc  
Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

### SUPEROXIDE DISMUTASE AND CATALASE ACTIVITY IN TISSUES OF RATS UNDER THE ACTION OF STRESS AND INJECTION OF SOME AMINO ACIDS

*The effect of L-glutamic acid (L-Glu), cysteine (L-Cys) and L-Glu in combination with L-Cys in the tissues of kidney, spleen, lung and myocardium of rats on the activity of some antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) has been studied. It has been found that application of L-Glu, L-Cys and L-Glu in combination with L-Cys under the action of stress leads to increased activity of superoxide dismutase in tissues of kidney and lung (second experimental group), spleen (second and third experimental groups) and myocardium (second, third and fourth experimental groups). It should be noted that catalase activity increased in tissues of myocardium of the second experimental group animals that received L-Glu. It has been shown that in stressed animals without use of these amino acids, activity of superoxide dismutase decreased in tissues of kidney, spleen, lung and myocardium and activity of catalase in tissues of spleen, lung and myocardium compared with the control group of animals.*

**Key words:** glutamic acid, cystein, antioxidant system, stress.

УДК 577.115.083

Д. Воєйкова, асп., Г. Любас, студ., Л. Степанов, канд. біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,  
М. Кондро, канд. мед. наук  
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів

### ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІПІДНОГО СКЛАДУ ВНУТРІШНЬОЇ МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ МЕМБРАНИ ГЕПАТОЦИТІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ УТРИМАННЯ НА ВИСОКОКАЛОРИЙНІЙ ДІЄТІ

*Використання висококалорійної дієти (ВКД), яка може містити або велику кількість жирів, або велику кількість вуглеводів, показало прямий вплив на кількісний і якісний вміст ліпідів у внутрішній мітохондріальній мембрані. Так, за використання жирів різного походження змінюється співвідношення фосфоліпідів, а при високому вмісті вуглеводів змінюється жирнокислотний склад. Тому, метою наших досліджень було визначити показники ліпідного обміну у внутрішній мітохондріальній мембрані гепатоцитів при утриманні експериментальних щурів на дієті з високим вмістом і жирів, і вуглеводів. Виявилось, що утримання на ВКД з комбінування великої кількості вуглеводів і жирів впливає на вміст ліпідів внутрішньої мітохондріальної мембрани схожим чином, як і у випадку ВКД з жирами різного походження. Сумарно підвищується вміст фосфоліпідів, а також значно підвищується вміст холестеролу поряд зі зниженням вмісту ефірів холестеролу. Також, ліпідний вміст змінюється поступово з найбільшими значеннями на 15-ти тижневому терміні утримання тварин на змінній дієті.*

**Ключові слова:** висококалорійна дієта, мітохондріальна мембрана, фосфоліпіди, холестерол, ефіри холестеролу.

**Вступ.** Сьогодні відомо, що використання висококалорійних дієт (ВКД) призводить до суттєвих порушень у співвідношенні певних фосфоліпідів та їх жирнокислотного складу у мембрані мітохондрій гепатоцитів [1-3, 11, 12].

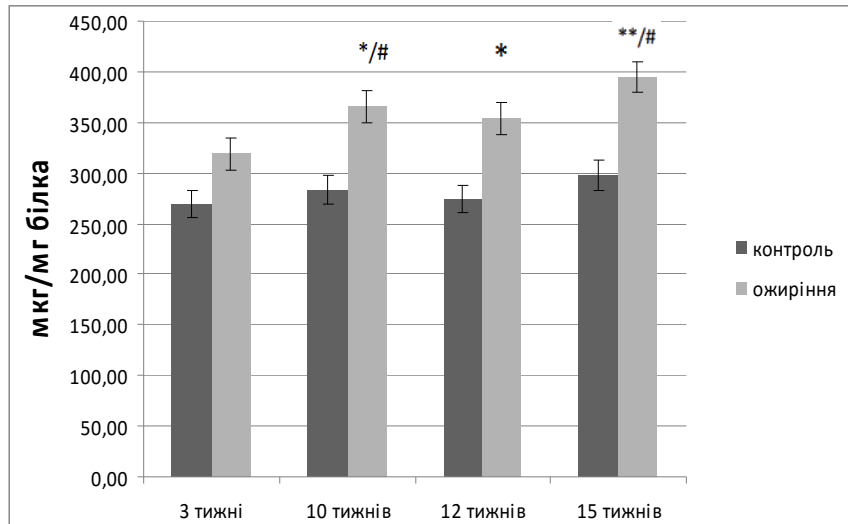
Більшість ВКД, які застосовуються в експериментах, характеризуються високим вмістом жирів, як рослинного (рапсова, оливкова, соняшникова або кукурудзяна олія), так і тваринного походження (риб'ячий жир, смалець), які можуть споживатись окремо або у комбінованому вигляді. В зв'язку з тим, що розвиток порушень метаболізму за умов розвитку ожиріння відбувається не тільки за умов споживання надлишкових кількостей ліпідів, але і вуглеводів [1-3, 6] метою наших досліджень було визначити показники ліпідного обміну у внутрішній мітохондріальній мембрані гепатоцитів при утриманні експериментальних щурів на дієті з високим вмістом і жирів, і вуглеводів.

**Матеріали і методи.** Робота була проведена на 100 білих нелінійних щурах, які перед початком експерименту були поділені на дві групи. Метаболічні порушення у щурів були змодельовані за допомогою використання ВКД # С 11024 (Research Diets, New Brunswick, NJ), яка складалася з стандартного корму (47 %), згущеного молока (44 %), кукурудзяної олії (8 %), крохмалю (1 %). Щурів першої групи утримували на стандартному кормі та з вільним доступом до води. Щурів другої групи утримува-

ли на дієті # С 11024 і з вільним доступом до води. Після 3, 10, 12, 15 тижнів після початку експерименту з кожної групи відбиралися 10 тварин.

Морфологічно та функціонально інтактні клітини печінки було отримано згідно модифікованого неферментативного методу виділення гепатоцитарної фракції клітин печінки за Петренко А.Ю. зі співав. [8]. Препарати внутрішньої мітохондріальної мембрани отримували за допомогою поетапного ультрацентрифугування [10]. Екстракцію ліпідів проводили за методом Фолча з модифікаціями [9]. Вміст загальних ліпідів визначали за методом Chromy V. et al. [4]. Вміст вільного та етерифікованого холестеролу визначали за методом взаємодії з хлористим залізом [5].

**Результати та їх обговорення.** Наш експеримент мав за мету показати зміни у вмісті ліпідів внутрішньої мембрани мітохондрій за умов поєднання у дієті тварин високого вмісту вуглеводів і жирів та порівняти характер виявлених змін у щурів, що перебували на різних ВКД. Першим етапом нашого дослідження було визначення загального вмісту ліпідів у внутрішній мітохондріальній мембрані. Встановлено, що за умов утримання на ВКД з поєднанням вуглеводів і жирів, спостерігалось підвищення загального вмісту ліпідів починаючи з 10 тижня експерименту на 29% ( $p < 0,05$ ), 28% ( $p < 0,05$ ) і 32% ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з відповідним контролем (рис.1).



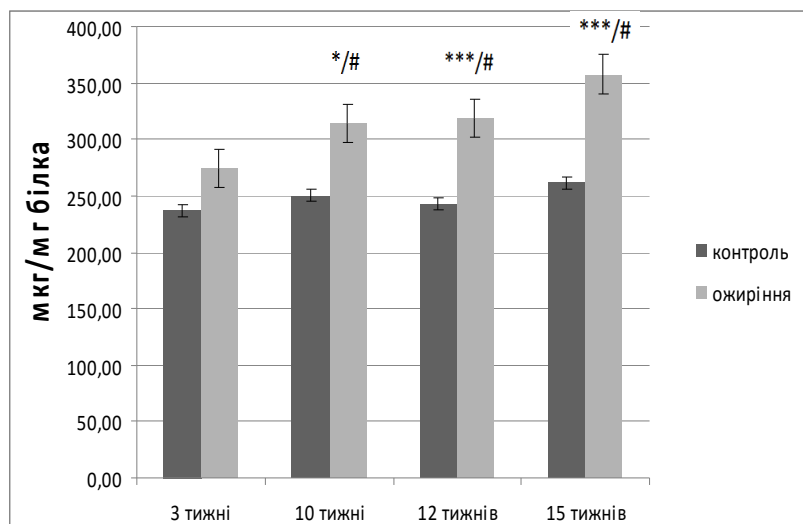
**Рис. 1. Загальний вміст ліпідів у фракції внутрішньомітохондріальної мембрани гепатоцитів щурів за умов утримання на ВКД**

Примітки: \* –  $p < 0,05$  відносно відповідного контролю; \*\* –  $p < 0,01$  відносно відповідного контролю; # –  $p < 0,05$  у порівнянні з дослідною групою на 3 тижні.

Аналізуючи виявлені зміни ми, також, порівняли між собою дослідні групи і виявили, що на 15-му тижні вміст ліпідів вищий у порівнянні з групою тварин, які утримувались лише 3 тижні на ВКД на 24% ( $p < 0,05$ ).

Визначаючи загальний вміст ліпідів, ми маємо на увазі, що це суміш фосfolіпідів, холестеролу, ефірів холестеролу та мінорних ліпідних форм. Тому, наступ-

ним етапом було визначення, який з типів ліпідів мембран робить внесок у підвищення їх загальної кількості у мембрані. Виявилось, що тривале утримання на ВКД спричинює підвищення вмісту фосfolіпідів у внутрішній мітохондріальній мембрані починаючи з 10 тижня на 25% ( $p < 0,05$ ), на 12 тижні на 31% ( $p < 0,05$ ) і на 15 тижні на 36% ( $p < 0,05$ ) відносно відповідного контролю (рис. 2).



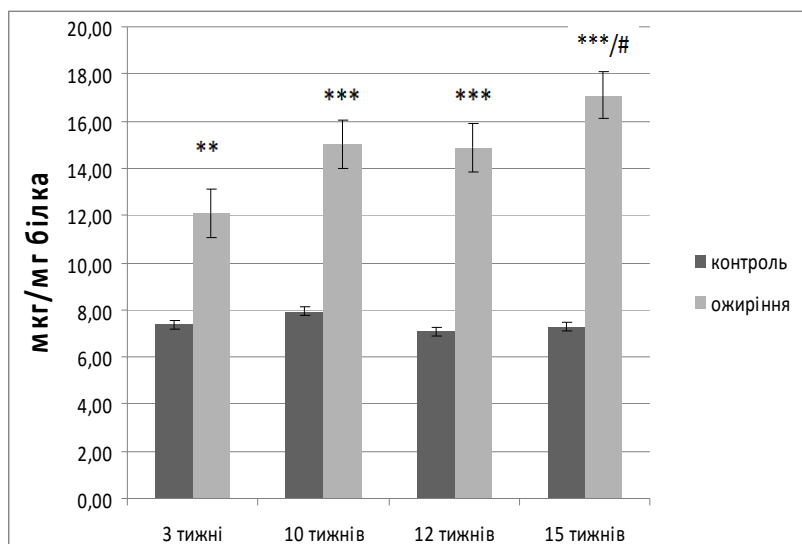
**Рис. 2. Вміст фосfolіпідів у фракції внутрішньомітохондріальної мембрани гепатоцитів щурів за умов утримання на ВКД**

Примітка: \* –  $p < 0,05$  відносно відповідного контролю; \*\*\* –  $p < 0,001$  відносно відповідного контролю; # –  $p < 0,05$  в порівнянні з дослідною групою на 3 тижні.

При порівнянні дослідних груп різного терміну утримання на ВКД з 3 тижнем виявилось подібне до загальних ліпідів підвищення вмісту фосfolіпідів, з найбільшим на 15 тижні на 30% ( $p < 0,05$ ).

Нами було встановлено, що найбільший внесок у зміни кількості ліпідів у мітохондріальній мембрані вносить холестерол (рис. 3). Так, починаючи з 3 тижня

утримання на ВКД, вміст холестеролу підвищувався на 64% ( $p < 0,05$ ) відносно відповідного контролю. Подальше утримання тварин на змінній дієті показало ще більше збільшення вмісту цього ліпідів на 84% ( $p < 0,05$ ) на 10 тижні, на 110% ( $p < 0,05$ ) на 12 тижні, з найбільшим підвищенням на 135% ( $p < 0,05$ ) на 15 тижні утримання.



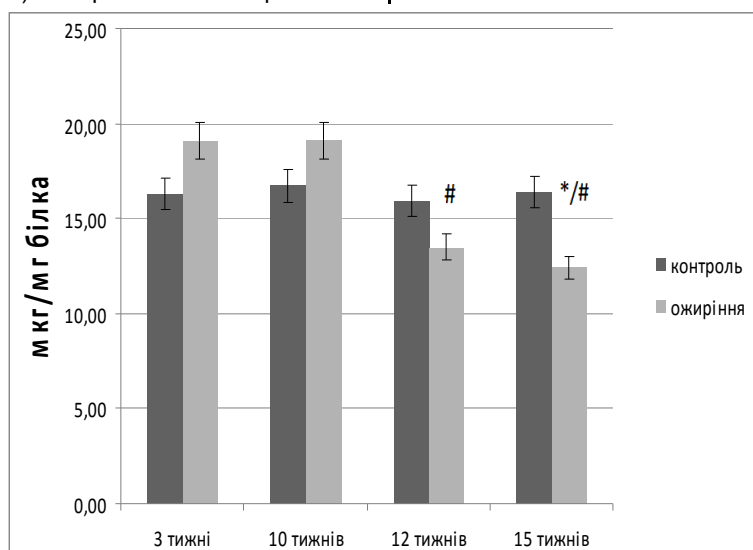
**Рис. 3.** Вміст холестеролу в фракції внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів щурів за умов утримання на ВКД

Примітки: \*\* –  $p < 0,01$  відносно відповідного контролю; \*\*\* –  $p < 0,001$  відносно відповідного контролю; # –  $p < 0,05$  в порівнянні з дослідною групою на 3 тижні.

Порівнюючи дослідні групи між собою виявилось, що вміст холестеролу поступово зростає, з найбільшою різницею вмісту у мембрані на 15 тижні, на 40% ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з 3 тижнем.

На останньому етапі ми визначили вміст ефірів холестеролу і виявилось, що він навпаки знижувався на 15 тижні на 32% ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з контрольною

групою (рис. 4). При цьому, порівнюючи дослідні групи з 3 тижнем утримання на ВКД, виявилось, що на 12 і 15 тижні відбувалось значне падіння показника на 41% ( $p < 0,05$ ) і 53% ( $p < 0,05$ ) відповідно.



**Рис. 4.** Вміст ефірів холестеролу в фракції внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів щурів за умов утримання на ВКД

Примітки: \* –  $p < 0,05$  відносно відповідного контролю; # –  $p < 0,05$  в порівнянні з дослідною групою на 3 тижні

Встановлені нами результати подібні до отриманих на інших типах ВКД з високим вмістом жирів різного походження. Так, при дієті з 30% жирів показане схоже підвищення загального вмісту ліпідів у мембрані та холестеролу, хоча така дієта не дає подібного до нашого одночасного підвищення і фосфоліпідів. При даному типі ВКД також було показано, що зміни ліпідного співвідношення впливають на функціонування дихального ланцюга і окиснення жирних кислот у мітохондрії. Використання у дієті рибачого жиру показала таке ж значне підвищення холестеролу, як було отримане нами у комбінованій

дієті [1, 3]. ВКД з одночасним застосуванням фізичного навантаження, а також додавання до дієти рапсової олії, показало схоже на отримане нами підвищення вмісту фосфоліпідів з одночасною зміною жирнокислотного складу [2, 6]. При цьому, утримання на ВКД з великою кількістю вуглеводів показало лише зміни у жирнокислотному складі без зміни загального вмісту ліпідів [14].

Представлені дані свідчать про суттєві зміни у ліпідному матриксі внутрішньої мембрани мітохондрій, що може призвести до порушення функцій, а саме на функціонування дихального ланцюга, при якому генеру-

ється не АТФ, а АФК, що в свою чергу спричинює розвиток окисного стресу як у мітохондрії, так і у всьому гепатоциті. Підтвердження наших припущень потребують подальших досліджень впливу комбінованого типу ВКД на печінку шурів.

**Висновки.** Отриманні дані показали, що ВКД з комбінування великої кількості вуглеводів і жирів впливає на вміст ліпідів внутрішньої мітохондріальної мембрани схожим чином, як і у випадку ВКД з жирами різного походження. Встановлено суттєве підвищення вмісту фосфоліпідів і холестеролу. Також, найбільший ефект спостерігався через 15-ть тижнів утримання тварин на змінній дієті.

#### Список використаних джерел

1. Aoun M. Rat liver mitochondrial membrane characteristics and mitochondrial functions are more profoundly altered by dietary lipid quantity than by dietary lipid quality: effect of different nutritional lipid patterns / M. Aoun, C. Feillet-Coudray, G. Fouret [et al.] // *British Journal of Nutrition*. – 2012. – Vol. 107, N 5. – P. 647-659.
2. Monteiro J.P. Rapeseed oil-rich diet alters hepatic mitochondrial membrane lipid composition and disrupts bioenergetics / J.P. Monteiro, C.V. Pereira, A.M. Silva [et al.] // *Archives of Toxicology*. – 2013. – Vol. 87, N 12. – P. 1251-1263.
3. Yamaoka S. Mitochondrial function in rats by modification of membrane phospholipids with dietary sardine oil / S. Yamaoka, R. Urade, M. Kito // *Journal of Nutrition*. – 1988. – Vol. 118, N 3. – P. 290-296.
4. Chromy V., Homakova M., Kukla R., Mohmakova A., Belusa J. // *Diagnostic of Laboratory*. – 1975. – Vol. 11, N 23.
5. Колб В.Г. Клиническая биохимия / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск, Беларусь, 1976. – С. 158-161.

6. Wander R.W. Effect of dietary carbohydrate on mitochondrial composition and function in strains of rat / R.W. Wander, C.D. Berdanier // *The Journal of Nutrition*. – 1985. – Vol. 115. – P. 190-199.

7. Jakobsson-Borin A. Effect of dietary fat on rat liver microsomal and mitochondrial/lysosomal dolichol, phospholipid and cholesterol / A. Jakobsson-Borin, O. Tollbom, G. Dallner // *Lipids*. – 1991. – Vol. 26, N 11. – P. 915-921.

8. Петренко А. Ю. Выделение гепатоцитов крыс не ферментативным методом: детоксикационная и дыхательная активности / А. Ю. Петренко, А. Н. Сукач, А. Д. Росляков // *Биохимия*. – 1991. – Т. 56, № 9. – С. 1647 – 1650.

9. Folch J. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissues / J. Folch, M. Leez, G.H. Stanley // *Journal of Biological Chemistry*. – 1957. – Vol. 226, N 2. – P. 497-501.

10. Ardail D. Mitochondrial contact sites / D. Ardail, J.P. Privat, M. Erget-Charlier [et al.] // *The Journal of Biochemistry*. – 1990. – Vol. 265. – P. 18797-18802.

11. Monteiro J.P. Mitochondrial lipid remodeling in pathophysiology: A new target for diet and therapeutic interventions / J.P. Monteiro, P.J. Oliveira, A.S. Jurado // *Progress in Lipid Research*. – 2013. – Vol. 52, N 4. – P. 513-528.

12. Monteiro J.P. Mitochondrial membrane lipids in life and death and their molecular modulation by diet: tuning the furnace / J.P. Monteiro, C.M. Morais, P.J. Oliveira, A.S. Jurado // *Current Drug Targets*. – 2014. – Vol. 15, N 8. – P. 797-810.

13. Goncalves I.O. Exercise alters liver mitochondria phospholipidomic profile and mitochondrial activity in non-alcoholic steatohepatitis / I.O. Goncalves, E. Maciel, E. Passos [et al.] // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 2014. – Vol. 54. – P. 163-173.

Надійшла до редколегії 16.10.15

Д. Воейкова, асп., А. Любас студ., Л. Степанова, канд. биол. наук, Л. Остапченко, д-р биол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,  
М. Кондро, канд. мед. наук  
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

## ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИПИДНОГО СОСТАВА ВНУТРЕННЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ ГЕПАТОЦИТОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ СОДЕРЖАНИИ НА ВЫСОКОКАЛОРИЙНОЙ ДИЕТЕ

*Использование высококалорийной диеты (ВКД), которая может состоять из большого количества жиров или большого количества углеводов, влияет на количественный и качественный состав липидов во внутренней митохондриальной мембране. Так, при использовании жиров разного происхождения изменяется соотношение фосфолипидов, а при высоком содержании углеводов изменяется жирнокислотный состав. Поэтому, целью наших исследований было определение показателей липидного обмена во внутренней митохондриальной мембране гепатоцитов при содержании экспериментальных крыс на диете с высоким содержанием и жиров, и углеводов. Полученные результаты показали, что при содержании на ВКД с комбинированием большого количества углеводов и жиров состав липидов во внутренней митохондриальной мембране меняется таким же образом, как и при ВКД с высоким содержанием жиров разного происхождения. Суммарно повышается содержание фосфолипидов, значительно увеличивается содержание холестерина, но при этом снижается содержание эфиров холестерина. Также, липидный состав изменялся постепенно с наиболее характерными изменениями на 15-й неделе содержания животных на измененной диете.*

*Ключевые слова: высококалорийная диета, митохондриальная мембрана, фосфолипиды, холестерин, эфиры холестерина.*

D. Voieikova, PhD stud., A.Liubas, stud, L.Stepanova, PhD., L. Ostapchenko, DSc.  
Taras Shevchenko National university of Kyiv, Kyiv, Ukraine,  
M. Kondro, DMc  
Danila Galitsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

## CHARACTERIZATION OF LIPID COMPOSITION IN INNER MITOCHONDRIAL MEMBRANE OF HEPATOCYTES EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER CONDITIONS OF KEEPING HIGH-CALORIE DIET

*Using high calorific diet (HCD) showed direct impact on quantitative and qualitative lipid content in the inner mitochondrial membrane. High-calorie diet can consist of large amount of different fat or a large amount of carbohydrates. Correlations of phospholipids are changed by conditions of a fatty diet, and fatty acid composition is changed while keeping carbohydrate diet. The aim of our research was to identify indexes of lipid metabolism in the inner mitochondrial membrane of hepatocytes by keeping experimental rats a diet high in fat and carbohydrates. It appeared that the maintenance of a HCD affects the composition of phospholipids in a similar manner as in the case of a high-fat diet. Total phospholipid content increased, cholesterol increased significantly, but the content of cholesterol esters decreased. Also, the lipid content is changed gradually with the largest meanings 15-week keeping on a modified diet.*

*Keywords: high calorific diet, mitochondrial membrane, phospholipids, cholesterol, cholesterol esters.*