

УДК 577.18:577.23

ВПЛИВ КОМПЛЕКСУ ПОПЕРЕДНИКІВ І МОДУЛЯТОРІВ БІОСИНТЕЗУ УБІХІНОНА НА СТАН МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ПОРИ ПЕРЕХІДНОЇ ПРОВІДНОСТІ В МІТОХОНДРІЯХ СЕРЦЯ ЗА ВВЕДЕННЯ АДРЕНАЛІНУ

Кучменко О.Б., Петухов Д.М.

*Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова, Київ;
kuchmeh@yahoo.com*

Використання комплексів попередників і модуляторів біосинтезу убихинона при адреналін-індукованому ушкодженні у щурів в якості профілактичного та терапевтичного засобу призводить до зниження чутливості мітохондріальної пори змінної провідності до впливу індуктора її відкриття, що може свідчити про можливість корекції з їх допомогою мітохондріальної дисфункції, яка розвивається при введенні адреналіну.

Ключові слова: мітохондрія, убихінон, мітохондріальна пора змінної провідності.

Вступ

Однією із важливих подій розвитку адреналін-індукованих пошкоджень є порушення енергетичного обміну та розвиток окислювального стресу [1, 2, 3]. Як було продемонстровано нами раніше, за умов адреналін-індукованих пошкоджень зменшується вміст одного із важливих компонентів ланцюга транспорту електронів в мітохондріях – убихінону (коферменту Q, CoQ), який також проявляє антиоксидантні властивості [4]. CoQ є також регулятором функціонального стану мітохондріальної пори перехідної провідності (mPTR), що залучена до механізмів апоптозу [5].

На сьогодні не викликає жодних сумнівів ефективність використання препаратів CoQ в якості антигіпоксичних і протиішемічних засобів [6]. Але застосування лікарських препаратів, що містять CoQ, має ряд недоліків – призводить до пригнічення ендогенного синтезу CoQ і є економічно не вигідним для пацієнтів із-за їх високої вартості. Таким чином, пошук підходів до стимуляції ендогенного синтезу CoQ є актуальним. Таким чином, метою даної роботи було дослідження дії комплексів попередників і модуляторів біосинтезу CoQ на чутливість mPTR до дії індуктора її відкриття в мітохондріях серця при введенні тваринам адреналіну.

Методи дослідження

Досліди проведені на білих безпородних щурах – самцях масою 180-220 г. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію з вільним споживанням води. Тваринам вводили внутрішньом'язево 0,5 мл 0,1 % розчину адреналіну гідрохлориду (адреналін-Дарниця, ФФ ЗАТ «Дарниця», Україна) [7]. Контрольна група щурів отримувала фізіологічний розчин в такому ж об'ємі. Комплекси біологічно активних сполук – попередників і модуляторів біосинтезу CoQ (комплекс ЕПМ складається із \pm -токоферолацетату, ПОБК і метіоніну; комплекс ЕПМД складається із \pm -токоферолацетату, ПОБК, метіоніну і диметилсульфоксиду), вводили до і після введення адреналіну (відповідно профілактичний і терапевтичний вплив). Кількості введених сполук приведені в патенті [8]. У випадку профілактичного введення комплекси ЕПМ і ЕПМД вводили перорально протягом 7 діб. Після цього тваринам вводили адреналін. На 3-тю добу тварин декапітували. У випадку терапевтичного введення спочатку тварини отримували адреналін, а потім протягом 15 діб їм вводили комплекси ЕПМ і ЕПМД перорально. Органи на дослідження брали на 16-ту добу після введення адреналіну. Контрольні групи у всіх випадках отримували розчинники – оливкову олію і

воду [1, 7].

Згідно з вимогами Міжнародного Комітету із гуманного поводження з тваринами декапітацію проводили максимально швидко та з найменшим болем під легким ефірним наркозом. За допомогою методу диференціального центрифугування виділяли фракцію мітохондрій [9]. Дослідження стану mPTP проводили за допомогою спектрофотометричної реєстрації набухання мітохондрій серця щурів [10]. Для цього ізольовані мітохондрії поміщали в інкубаційне середовище ізотонічного складу (ммоль/л): KCl – 120, тріс – HCl – 25, KH_2PO_4 – 3, pH 7,4 (кінцевий об'єм – 3 мл) і реєстрували зниження їх оптичної густини при $\lambda = 520$ нм за 3 хв до і через 12 хв після їх набухання у присутності індуктора в інкубаційному середовищі. В якості індуктора mPTP використовували феніларсеноксид (FAO) – неспецифічний модифікатор сульфгідрильних груп. Вміст білка в інкубаційному середовищі становила 0,3 мг/мл. В якості контролю використовували суспензію нативних мітохондрій в інкубаційному середовищі за відсутності індуктора з наступною реєстрацією оптичної густини протягом 15 хв. Вміст білка визначали за методом Лоурі [11]. Отримані результати опрацьовані методами варіаційної статистики із використанням програми Excel (MS Office XP). Числові дані представлені у формі середньої величини із стандартним відхиленням ($M \pm m$). Достовірність різниці двох середніх величин оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента.

Результати й обговорення

Як відомо, одним із механізмів пошкоджуючої дії катехоламінів є зміна проникності мембран [12]. В результаті проведених досліджень показано, що за умов введення тваринам адреналіну в мітохондріях серця спостерігається зростання чутливості mPTP до дії FAO (рис. 1, криві 4, 5) порівняно з контролем (рис. 1, криві 1, 2), що може свідчити про зростання проникності мітохондріальної мембрани.

При введенні тваринам профілактично комплексів ЕПМ і ЕПМД додавання FAO не викликає суттєвого зростання чутливості mPTP порівняно з мітохондріями тварин, які не отримували цих комплексів. За умов введення комплексів ЕПМ і ЕПМД з лікувальною метою спостерігалось зменшення чутливості mPTP до дії індуктора її відкриття – FAO в мітохондріях серця порівняно з мітохондріями тварин, яким вводили тільки адреналін (рис. 2).

Окислення специфічних тіолових за-

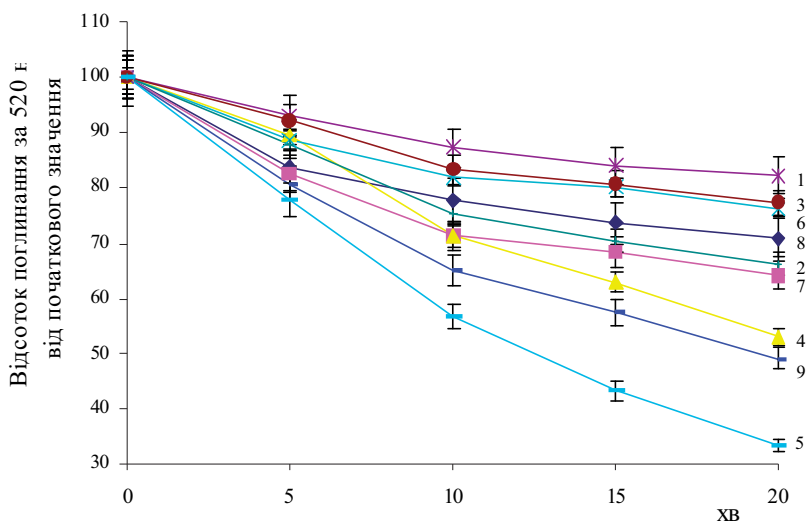


Рис. 1. Ступінь набухання мітохондрій серця контрольних щурів, яким вводили адреналін та комплекси ЕПМ і ЕПМД з профілактичною метою за умов дії індуктора феніларсеноксиду ($M \pm m$, $n = 6$).

Примітка: 1 – мітохондрії контрольних тварин; 2 – мітохондрії контрольних тварин, дія FAO (10^{-4} моль/л); 3 – преінкубація мітохондрій контрольних щурів з циклоспорином А (10^{-5} моль/л), FAO (10^{-4} моль/л); 4 – мітохондрії тварин, яким вводили адреналін; 5 – мітохондрії тварин, яким вводили адреналін, дія FAO (10^{-4} моль/л); 6 – мітохондрії тварин, яким вводили адреналін та профілактично комплекс ЕПМ; 7 – мітохондрії тварин, яким вводили адреналін та профілактично комплекс ЕПМ, дія FAO (10^{-4} моль/л); 8 – мітохондрії тварин, яким вводили адреналін та профілактично комплекс ЕПМД; 9 – мітохондрії тварин, яким вводили адреналін та профілактично комплекс ЕПМД, дія FAO (10^{-4} моль/л).

лишків в мітохондріальних білках є важливим регулятором індукції mPTP. На основі кореляції між редокс-станом мітохондріального глутатіону і тіолових груп, а також індукцією mPTP та інгібуванням мітохондріального дихання можна припустити існування причинно-наслідкового зв'язку між цими подіями.

Зміни вмісту та редокс-стану мітохондріальних антиоксидантів може бути також важливим фактором регуляції стану mPTP. За умов окислювального стресу критичні тіолові групи білків комплексу mPTP гірше захищені від дії активних форм кисню і азоту. Можливо, інгібування мітохондріального дихання за введення адреналіну, яке продемонстровано нами раніше [4], виникає внаслідок індукції mPTP. Одним із білків, який залучений до мітохондріального енергетичного метаболізму і активність якого визначається станом тіолових груп, є комплекс I, активність якого знижується при введенні адреналіну [4].

Висновки

Отримані результати свідчать про розвиток мітохондріальної дисфункції за умов дії адреналіну в мітохондріях серця дослідних тварин, і, зокрема, підвищення чутливості mPTP до індуктора її відкриття – FAO – і, відповідно, зростання проапоптичних якостей клітин цих тканин у тварин, яким вводили адреналін порівняно із тваринами контрольної групи. Введення тваринам комплексів попередників і модуляторів біосинтезу CoQ ЕПМ і ЕПМД справляло протекторний ефект, знижуючи чутливість mPTP до дії індуктора її відкриття.

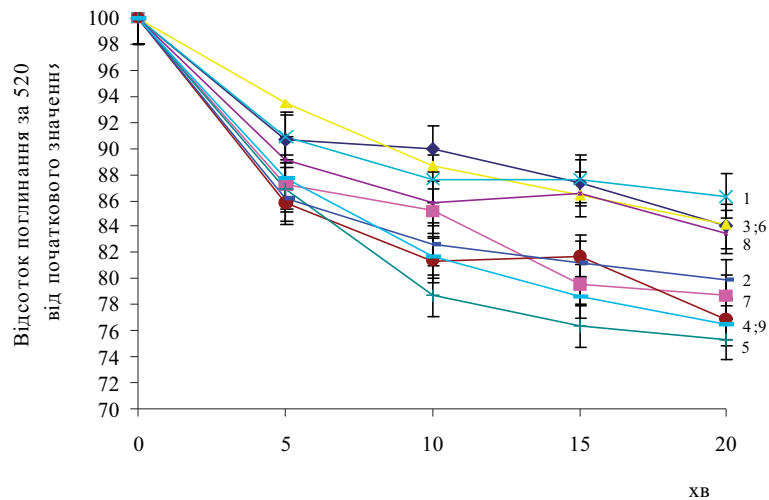


Рис. 2. Ступінь набухання мітохондрій серця контрольних щурів, яким вводили адреналін та комплекси ЕПМ і ЕПМД з терапевтичною метою за умов дії індуктора феніларсиноксиду ($M \pm m$, $n = 6$).

Примітка: позначення як на рис. 1.

Література

1. Крылов В.Н. Влияние убихинона-10 на энергетический обмен и ПОЛ в миокарде крыс при ишемии / В.Н. Крылов, Л.Д. Лукьянова, А.С. Корягин, Е.В. Ястребова // Бюл. exper. биол. и мед. – 2000. – Т. 130, № 7. – С. 35 – 38.
2. Мхітарян Л.С. Окислювальний стрес: механізми розвитку і роль в патології / Л.С. Мхітарян, О.Б. Кучменко. – Киев, 2004. – 223 с.
3. Хавинсон В.Х. Свободнорадикальное окисление и старение / В.Х. Хавинсон, В.А. Баринин, А.В. Арутюнян, В.В. Малинин. – СПб: Наука., 2003. – 327 с.
4. Кучменко О.Б. Ефект попередників і модуляторів біосинтезу убихінону на вміст і функціонування убихінону та оксидативний статус у серці при введенні адреналіну / О.Б. Кучменко, Д.М. Петухов, І.Н. Євстратова, Л.С. Мхітарян, Г.В. Донченко // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. – 2011. – Вип. 2, Т. 1. – С. 68 – 74.
5. Turunen M. Metabolism and function of coenzyme Q / M. Turunen, J. Olsson, G. Dallner // BBA. – 2004. – Vol. 1660, No.1-2. – P. 177 – 199.

6. Sarter B. Coenzyme Q10 and cardiovascular disease: a review / B. Sarter // J. Cardiovasc. Nurs. – 2002. – Vol. 16, No. 4. – P. 9 – 20.
7. Андреев С.В. Моделирование заболеваний / С.В. Андреев // Под ред. С.В. Андреева. – М., 1973. – С. 198 – 223.
8. Патент 82639, Україна, А61К31/355 Комплексний препарат для підвищення внутрішньоклітинного енергетичного обміну в організмі / Донченко Г.В., Кузьменко І.В., Кучменко О.Б., Петухов Д.М. – заяв. 26.09.2006, опубл. 25.04.2008. Бюл. №8.
9. Schneider W.C. Intracellular distribution of enzymes; the oxidation of octanoic acid by rat liver fractions / W.C. Schneider // J. Biol. Chemistry. – 1948. – V. 176, No.1. – P. 259 – 266.
10. Сагач В.Ф. Старіння підвищує чутливість до індукторів мітохондріальної пори в серці щурів / В.Ф. Сагач, Г.Л. Вавилова, Н.А. Струтинська, О.В. Рудик // Фізіологічний журн. – 2004. – Т. 50, № 2. – С. 49 – 63.
11. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, No 1. – P. 265 – 275.
12. Маркова О.О. Міокардіодистрофія і реактивність організму. / О.О. Маркова. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 152 с.

Резюме

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ И МОДУЛЯТОРОВ БИОСИНТЕЗА УБИХИНОНА НА СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПОРЫ ПЕРЕМЕННОЙ ПРОВОДИМОСТИ В МИТОХОНДРИЯХ СЕРДЦА ПРИ ВВЕДЕНИИ АДРЕНАЛИНА
 Кучменко Е. Б., Петухов Д.Н.
 Использование комплексов пред-

шественников и модуляторов биосинтеза убихинона при адреналин-индуцированном повреждении у крыс в качестве профилактического и терапевтического средства приводит к снижению чувствительности митохондриальной поры переменной проводимости к воздействию индуктора её открытия, что может свидетельствовать о возможности коррекции с их помощью митохондриальной дисфункции, которая развивается при введении адреналина.

Ключевые слова: митохондрия, убихинон, митохондриальная пора переменной проводимости.

Summary

EFFECT OF COMPLEXES OF PRECURSORS AND MODULATORS OF UBIQUINONE BIOSYNTHESIS ON CONDITION OF MITOCHONDRIAL PERMEABILITY TRANSITION PORE IN HEART MITOCHONDRIA UNDER ADRENALINE TREATMENT

Kuchmenko O.B., Petukhov D.M.

Preventive and/or subsequent application of complexes of precursors and modulators of ubiquinone biosynthesis under adrenaline treatment decreases in sensitivity of mitochondrial permeability transition pore to inductors of its opening in rats' heart mitochondria. This approach may be used for correction of mitochondrial dysfunction under adrenaline treatment.

Key words: mitochondria, ubiquinone, mitochondrial permeability transition pore.

Впервые поступила в редакцию 16.05.2013 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования