

INFLUENCE OF FLAVONS ON Ca^{2+} - ACCUMULATING CAPACITY OF RAT LIVER MITOCHONDRIA

Shirnova I. A.,

Doctor of Biological Sciences, Associate Professor. Gulistan State University, E-mail:
Shirnova Inobat 1957@gmail.com. Tel .: (91) 508-16-18

Ermatova S. M.,

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor. Tashkent State Pedagogical
University named after Nizami, E-mail: surayo.mutalovna@mail.ru. Tel .: (90) 185-13-57

Annotation.

After the introduction of catacin into the body, there was a decrease in Ca^{2+} - the accumulating capacity of liver mitochondria. The introduction of the poison of a spectacled snake (cobra) into the body led to an acceleration of the penetration of the Ca^{2+} ion into the mitochondria. With the introduction of catacin into the body of an animal poisoned with the venom of a spectacled snake (cobra), a decrease in Ca^{2+} - the accumulating capacity of mitochondria was observed.

Key words: mitochondria, liver, catacin, snake, venom, accumulation

Введение. Известно, что катацин [2,10,12] обладает выраженным антигипоксическим эффектом и непосредственно влияет на газокислородный обмен и энергетический метаболизм митохондрии (МХ) при гипоксии. Известно, что антигипоксантигутимин и оксibuтират натрия оказались эффективными как при использовании профилактически, так и после отравления ядом змей [3-6, 11, 13-15]. Вопрос о возможности прямого действия антигипоксантов катацина на кальций аккумулирующую ёмкость митохондрий разных органов животных на фоне действия ядов змей остаётся открытым.

Хорошо известно, что ионы Ca^{2+} регулируют многие внутриклеточные процессы, в том числе и образование энергии. Регуляция реализуется либо прямым аллостерическим действием Ca^{2+} на ферменты-мишени, либо косвенно, путем активации/торможения различных протеинкиназ и протеинфосфатаз, катализирующих фосфорилирование/дефосфорилирование ферментов-мишеней. Считается общепринятым, что ионы Ca^{2+} могут регулировать синтез АТФ в митохондриях за счёт активации нескольких дегидрогеназ цикла Кребса. Известно, что Ca^{2+} может модулировать активность транслоказы адениновых нуклеотидов. Максимальная скорость синтеза и гидролиза АТФ в МХ печени крыс наблюдается после добавления к дышащим митохондриям $5,10^{-7}M Ca^{2+}$. Снижение концентрации Ca^{2+} до $10^{-8}M$ или её

увеличение до $5,10^{-6}M$ приводят к торможению окислительного фосфорилирования и гидролиза АТФ [9].

Изучение действия каталина на транспорт Ca^{2+} митохондрий клеток печени здоровых животных и отравленных ядом кобры, является, на наш взгляд, весьма интересным.

Способы и методы. В экспериментальных исследованиях были использованы белые крысы массой 200-230 г. Животных содержали на смешанном рационе в хорошо вентилируемом, светлом помещении, в деревянных клетках (размером 50x30 см) по 8-10 крыс в каждой. Пищу и воду крысы получали без ограничения.

Животных разделили на 4 группы по 10 в каждой. Животным 1-й, 2-й и 3-й групп вводили внутримышечно яд среднеазиатской кобры *Naja naja oxina* Echwald в дозе 160 мкг/кг. Через 2 мин животным 2-й и 3-й групп дополнительно вводили каталин по 50 мг/кг. Крысы 4-й группы получали физиологический раствор. Через 15 мин после введения яда кобры животных декапитировали. Яд среднеазиатской кобры получали из Института Зоологии и паразитологии АН РУз. В работе использованы образцы яда коллекции 2002 г., высушенного в эксикаторе над хлористым кальцием.

Митохондрии из клеток печени крыс выделяли по методу Алматова К.Т. [1]. Перенос Ca^{2+} через митохондриальную мембрану регистрировали рН-метрическим методом, основанным на изменении $2H^{+}/Ca^{2+}$ -обмен в митохондриях [7]. При последовательном добавлении нескольких порций хлорида кальция к суспензии МХ поглощение Ca^{2+} в обмен на протоны сменяется самопроизвольным выходом накопленного Ca^{2+} . Это связано с повреждением мембран митохондрий, вызванным в основном активацией фосфолипазы A_2 и фосфолипазы D большими концентрациями Ca^{2+} , разобщением окислительного фосфорилирования, изменением мембранной проницаемости, а также открытием циклоспорин А – чувствительной поры [16, 17]. Чем больше Ca^{2+} митохондрии могут аккумулировать до самопроизвольного его выброса, тем более устойчивы их мембранные структуры к повреждающему действию этих ионов. В зависимости от ряда условий стехиометрии обмен Ca^{2+} на протоны может изменяться. Так как в присутствии фосфата в качестве проникающего аниона стехиометрия $2H^{+}/Ca^{2+}$ -обмена постоянна и приблизительно равна 1, то в экспериментах среда инкубации содержала 120 ммоль трис-КCl, 10 ммоль трис-HCl, 5 ммоль сукцината, рН 7,4, ротенон (1 мкг/мл) и 1 ммоль фосфата. Систему калибровали раствором HCl известной концентрации. Белок определяли по методу О.Н.Lowry и соавт. [18].

Полученные результаты. Установлено, что после введения в организм животных каталина Ca^{2+} -аккумулирующая ёмкость митохондрий печени уменьшается (табл.1). Так, введение в организм 50 мг каталина на кг массы тела Ca^{2+} -аккумулирующая ёмкость митохондрий печени уменьшается на 26,8% от уровня контроля. Снижение Ca^{2+} -аккумулирующей ёмкости митохондрий, выше указанным антигипоксантом, связано либо с ингибированием поглотительной функции митохондрий иона Ca^{2+} , либо каталин увеличивает содержание гликопротеина, специфически связывающего

Ca^{2+} , либо он активирует рианодиновый рецептор [8]. Добавление рианодина к изолированным митохондриям приводило к подавлению транспорта Ca^{2+} и ингибировало высокоамплитудное набухание митохондрий.

Таблица 1. Влияние катацина на Ca^{2+} - аккумулирующую ёмкость МХ печени крыс ($M \pm m$; n = 8-10)

Препарат	Ca^{2+} - аккумулирующую ёмкость, нмоль/белка
Контроль	84,3±4,4
Катацин	61,7±3,9***

Таблица 2 Влияние яда кобры на Ca^{2+} - аккумулирующую ёмкость МХ печени крыс на фоне действия катацина ($M \pm m$; n = 8-10)

Показатель	Ca^{2+} - аккумулирующую ёмкость, нмоль/мг белка		
	здоровые животные	животные, получившие яд кобры	
		контроль	катацин
Печень	91,4±5,9	154,1±12,6****	110,1±6,7
%	100	168,6	120,4

Выводы и предложения. Полученные в данной серии исследований результаты позволяют считать что катацин ингибирует поступление Ca^{2+} в митохондрии.

В следующей серии экспериментов было изучено влияние катацина на Ca^{2+} -аккумулирующую ёмкость митохондрий печени животных на фоне действия яда кобры (табл.2). Установлено, что под влиянием яда поглощение ионов кальция в митохондриях печени крыс повышается на 68,6% от уровня нормы. В присутствии катацина оно составило всего 20,4%. Это означает, что катацин снижает Ca^{2+} -аккумулирующую ёмкость митохондрий, то есть почти полностью снимают отрицательный эффект яда кобры. На наш взгляд, яд кобры вызывает индуцированное окислительным стрессом прогрессивное увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_c$, дающее сигнал к осуществлению Ca^{2+} -цикла на митохондриальной мембране. Это увеличение продолжается до тех пор, пока работа систем входа и выхода Ca^{2+} не приведёт к критическому повышению $[\text{Ca}^{2+}]_m$ до 1-3 мкМ. В этих условиях происходит индукция Ca^{2+} -зависимой неспецифической проницаемости внутренней мембраны (так называемая «мембранная пора»). Она сопровождается высокоамплитудным набуханием Мх, повреждением наружной мембраны и высвобождением в цитозоль растворимых проапоптотических агентов. К ним относятся локализованные в межмембранном пространстве цитохром С, апоптозиндуцирующий фактор, ряд каспаз, которые непосредственно участвуют в запуске каскада апоптотических

реакций, а также фактора Smas/DIABLO, который промотирует апоптоз и инактивирует ингибиторы апоптических белков [8].

Таким образом, при введении в организм катацина на фоне отравления животного ядом кобры происходит подавление транспорта Ca^{2+} и ингибирование высокоамплитудного набухания митохондрий. Исходя из этого катацин, относящийся к ряду флавонов, в целях предотвращения изменений в митохондриях и нормализации дыхательного процесса, (после ряда исследований) может быть рекомендована к использованию (в качестве противоядия) при укусе кобры.

Литература:

1. Алматов К.Т., Ахмеров Р.Н. и др. Физиология человека и животных. Методические указания к лабораторным занятиям. Т.: Университет. 1993. ч.1. 50 с.
2. Асанова К.А. Энергетика животных и роль ферментных систем митохондрий и повышении жизнеустойчивости при гипоксии: Автореф, дис, канд. биол. наук. Т. 2002. 23 с.
3. Богрова Т.А. Противогипоксическое действие оксибутирата натрия. Журн. Актуальные вопросы невропатологии и нейрохирургии. Т. 1976. №9. С.5-10.
4. Вальцева И.А., Стрелков Р.П. и др. Роль антигипоксантов при интоксикациях организма некоторыми ядами животного происхождения. Журн. Актуальные вопросы современной паразитологии: Тр. 1-го ММИ. М. 1975. №84. С.56-57.
5. Виноградов В.М. Некоторые итоги и перспективы изучения гутимины – одного из первых антигипоксических средств. Журн. Фармокология амидиновых соединений. Кишинёв. 1972. С.106-114.
6. Виноградов В.М., Пастушенков Л.В. Дыхательная недостаточность в клинике и эксперименте. Куйбышев. 1997. 285 с.
7. Гагельганс А.И. Транспорт ионов в митохондриях и действие тиреоидных гормонов: Дис. канд. биол. наук. Т. 1970. 177 с.
8. Дерябина Ю.И., Исакова Е.П., Звягильская Р.А. Ca^{2+} -транспор-тирующие системы митохондрий: свойства, регуляция, таксономические особенности. Журн. Биохимия. 2004. Т. 69. №1. С.114-127.
9. Евтодиенко Ю.В., Азарашвили Т.С и др. Регуляция ионами кальция окислительного фосфорилирования во внутренней мембране митохондрий печени крысы. Журн. Биохимия. Т. 2000. Т.65. вып. 9. С.1210-1214.
10. Курмуков А.Г., Назруллаев А., Ахмеров Р.Н. Влияние антигипоксического препарата катацина на энергетический метаболизм миокарда. Медицинский журнал Узбекистана. Т. 1990. №11. С.7-9.
11. Машковский М.Д. Лекарственные средства. т.2. Т. 1987.
12. Назруллаев С.С. Фармакологические исследования проантоциани-дина катацина, выделенного из тарана дубильного. Автореф. дис. канд. биол. наук. Т. 1994. 20 с.

- 13.Новиков В.Е. Влияние натрия оксибутирата на динамику развития травматического отека – набухания головного мозга. Журн. Фармакология и токсикология. Т. 1991. №6. С.9-11.
- 14.Орлов Б.Н., Вальцева И.А. Яды змей. Т.: Медицина. 1997. 250 с.
- 15.Чичканов Г.Г., Богомолов А.К. и др. О влиянии оксибутирата натрия на кровообращение и деятельность интактного и ишемизированного мио-карда. Журн. Бюллетень экспериментальной биологии. Т.1982. №3. С.44-47.
- 16.Алматов К.Т. Механизмы развития повреждений мембран митохондрий и роль липолитической системы. Дисс. докт. биол. наук. Т. 1990. 420 с.
- 17.Алматов К.Т., Ахмеров Р.Н., Зарипов Б.З., Эргашев М.С., Алламурадов Ш.И. Методические указания к лабораторным занятиям по курсу физиология человека и животных. Т.:Университет. 1993. С.52.
- 18.Пакровский В.П. Практикум по биохимии. М.:МГУ. 1993. 210 с.