



УДК 59.104+612. 357-02]- 092. 9

ПОРУШЕННЯ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ТКАНИНИ ПЕЧІНКИ ЯК ОДИН ІЗ МЕХАНІЗМІВ АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ

О. П. МЯЛЮК, здобувач^{*},

І. М. КЛІЩ, доктор біологічних наук, професор,

В. В. ЗАЄЦЬ, лікар,

М. І. МАРУЩАК, доктор медичних наук, доцент

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені

І. Я. Горбачевського МОЗ України»

КЗТОР «Тернопільська університетська лікарня»

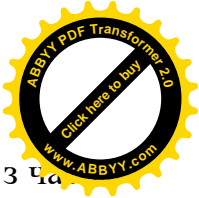
E-mail: marushchak@tdmu.edu.ua

***Анотація.** На підставі одержаних даних у статті можна з певною вірогідністю стверджувати, що негативний вплив на функціонування циклу трикарбонових кислот за умови аліментарного ожиріння чинить купрум, оскільки активність цитохромоксидази зменшується у міру зростання вмісту купруму у тканині печінки ($r_{xy}=(-0,65)$, $p<0,05$). Низький вміст цинку в печінці не має позитивного впливу на активацію енергозабезпечення клітини.*

***Ключові слова:** експериментальне ожиріння, сукцинатдегідрогеназа, цитохромоксидаза*

Дослідження рівня енергетичних функцій клітини, стану циклу Кребса найчастіше оцінюють за активністю двох ензимів – сукцинатдегідрогенази й цитохромоксидази. Вони розташовані відповідно на початку і в кінці дихального ланцюга, знаходяться в еквімолекулярних взаєминах і організовані в кристах мітохондрії комплексними ансамблями із правильними проміжками [8-10]. Відомо, що сукцинатдегідрогеназа (СДГ) є одним з ключових регуляторних ферментів циклу трикарбонових кислот, каталізуючи окислення бурштинової кислоти до фумарової, а цитохромоксидаза (ЦХО) - векторний фермент внутрішньої мембрани мітохондрій, який регулює швидкість окисного фосфорилування [3]. Доведено, що саме клітинний енергодефіцит провокує

^{*} Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор І. М. Кліщ



компенсаторну активацію нейроендокринних та імунних медіаторів, що з часом веде до формування патологічних станів [5].

Різка збільшення поширеності ожиріння в кінці двадцятого століття, яке триває й донині, обґрунтовує актуальність вибраної теми дослідження. Для пояснення ожиріння було запропоновано кілька теорій, проте найпопулярнішою є малорухливий спосіб життя і нераціональне харчування [4]. Що ж відбувається на патогенетичному рівні? Попередні дослідження частини авторів показали, що за умови дієт-індукованого ожиріння спостерігається активація вільнорадикальних процесів, зокрема, пероксидного окиснення ліпідів, що проявляється вірогідним збільшенням дієнових кон'югатів і продуктів тіобарбітурової кислоти в крові і жировій тканині, зростанням рівня сумарних метаболітів оксиду азоту та інтенсифікацією окиснювальної модифікації білків нейтрального та основного характеру [1]. Результати наших досліджень вказують на активацію вільнорадикальних процесів у тканині печінки тварин з аліментарним ожирінням. Науковцями доведено, що за умови активації переокислення мембранних ліпідів порушується енергозабезпечення клітин [7]. Проте дані про активність ЦХО і СДГ за аліментарного ожиріння є недостатніми і досить суперечливими [12, 15].

Тому, **метою дослідження** було вивчити стан електронно-транспортного ланцюга мітохондрій печінки за аліментарного ожиріння та встановити його зв'язок із мікроелементами печінки.

Матеріали та методи дослідження. Експериментальна модель аліментарного ожиріння відтворювалась шляхом застосування індуктора харчового потягу - натрієвої солі глютамінової кислоти у співвідношенні 0,6:100,0 та висококалорійної дієти, яка складається із стандартної їжі (47 %), солодкого концентрованого молока (44 %), кукурудзяної олії (8 %) і рослинного крохмалю (1 %). Контроль відтворення аліментарного ожиріння здійснювали шляхом зважування тварин, вимірювання назально-анальної довжини та розрахунку індексу маси тіла (ІМТ) (ділення маси тіла в кілограмах

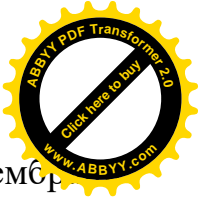


на довжину в метрах у квадраті) [11]. Тварин поділили на три групи: контрольна група – інтактні тварини (6 щурів); перша дослідна група – термін спостереження через 14 діб після початку експерименту за ІМТ>25 (12 щурів); друга дослідна група – через 28 діб після початку експерименту за ІМТ>30 (12 щурів).

Тварин декапітували під легким ефірним наркозом, для дослідження забирали тканину печінки. Печінку охолоджували у середовищі виділення, яке у своєму складі містило 0,25 М сахарози, 1 мМ ЕДТА і 10 мМ трис-НСІ-буфера (рН 7,4). Готували 10 %-ий гомогенат печінки, ядра відокремлювали центрифугуванням за 2000-2500 об./хв протягом 20 хв, мітохондріальну фракцію отримували після центрифугування без'ядерного супернатанту за 6500 об./хв протягом 10 хв. Отриманий осад мітохондрій ресуспензували в середовищі виділення. Активність СДГ визначали за її здатністю відновлювати фероціанід калію до фероціаніду сукцинату [6], визначення активності ЦХО базувалося на її здатності окислювати диметил-пара-фенілендіамін і б-нафтол з утворенням індофенолового синього [13].

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Excel» (Microsoft, США) та «STATISTICA» 6.0. («Statsoft», США) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою критерію Мана-Уїтні та критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Отримані зміни активності ензимів свідчать про пригнічення функції мітохондрій, що може бути однією із причин апоптозу. Встановлено, що за умови аліментарного ожиріння у щурів через 14 діб відмічається тенденція до зниження показників енергодефіциту клітини, тоді як через 28 діб вірогідне зменшення в печінці активності СДГ на 17,1 % і відповідно ЦХО – на 25,6 % ($p<0,05$) (рис. 1). Аналіз отриманих результатів вказує на пригнічення активності циклу лимонної кислоти.



Враховуючи те, що СДГ є інтегральним білком внутрішньої мембри мітохондрій, вона безпосередньо пов'язана з ланцюгом переносу електронів [2]. Враховуючи зниження активності СДГ можна говорити про зменшення показників АТФ і відновленої форми убихінону, який у мітохондріях виконує роль безпосереднього акцептора електронів від СДГ комплексу.

Зниження активності ЦХО в мітохондріях печінки щурів за аліментарного ожиріння можна обґрунтувати обмеженням надходження електронів від субстратної ланки дихального ланцюга через цитохроми b-c [14]. Пригнічення активності ЦХО може також виникати через зв'язування вільних кисневих радикалів з атомами металів, які є в складі досліджуваного ензиму.

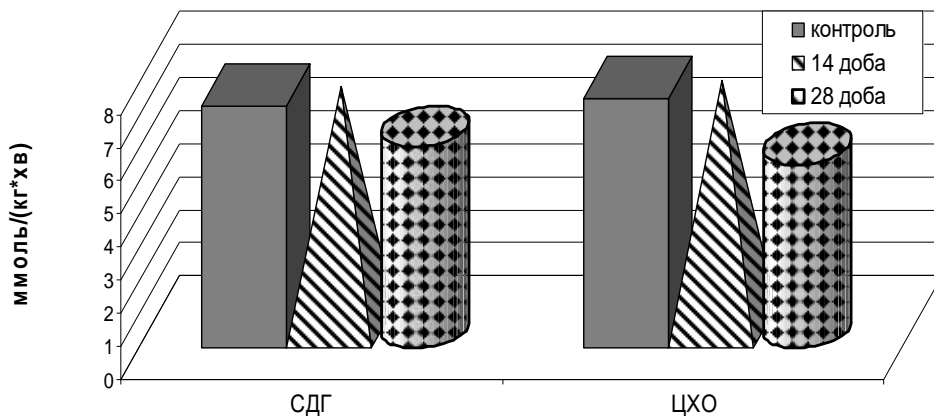


Рис. 1. Показники системи мітохондріального транспорту електронів у печінці щурів за умови аліментарного ожиріння

Тому, наступним етапом нашого дослідження було встановити взаємозв'язок між показниками системи мітохондріального транспорту електронів та мікроелементами у печінці щурів за умови аліментарного ожиріння. Встановлено прямий позитивний зв'язок між активністю СДГ і вмістом цинку в тканині печінки, а також негативний зв'язок між купрумом і ЦХО ($p < 0,05$). Оскільки купрум входить до складу цитохромів дихального ланцюга, його дисбаланс впливає на протікання енергетичних процесів у мітохондріях. Пригнічення активності ЦХО у даному випадку можна пояснити надмірним зв'язуванням вільних кисневих радикалів з купрумом, який є у



складі досліджуваного ензиму. В дослідженнях Yamaguchi M. та співавт. [14] 1982 р. було показано, що цинк стимулює системи транспорту електронів і окисного фосфорилування, і, як наслідок, підвищує концентрацію АТФ у цитозолі печінки щурів, водночас цинк активує СДГ виразніше, ніж АТФ-азу [14]. В нашому дослідженні ми виявили таку ж взаємозалежність між рівнем цинку і активністю СДГ у щурів з аліментарним ожирінням (див. табл.).

Кореляційні зв'язки між активністю сукцинатдегідрогенази й цитохромоксидази та рівнем мікроелементів у тканині печінки щурів з аліментарним ожирінням

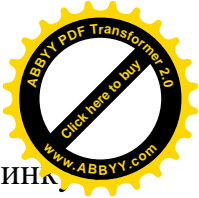
Мікроелементи	Сукцинатдегідрогеназа		Цитохромоксидаза	
	Коефіцієнт кореляції r_{xy}	p	Коефіцієнт кореляції r_{xy}	p
Цинк	0,75	<0,01	0,45	>0,05
Купрум	0,06	>0,05	-0,65	<0,05
Магній	0,55	>0,05	-0,47	>0,05

Висновки

Отже, на підставі одержаних даних можна з певною вірогідністю стверджувати, що негативний вплив на функціонування циклу трикарбонових кислот за умови аліментарного ожиріння чинить купрум, оскільки активність ЦХО зменшується у міру зростання вмісту купруму у тканині печінки ($r_{xy} = (-0,65)$, $p < 0,05$). Низький вміст цинку в печінці не має позитивного впливу на активацію енергозабезпечення клітини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антонишин І. В. Стан пероксидного окиснення ліпідів при експериментальному дієтіндукованому аліментарному ожирінні / І. В. Антонишин, М. І. Марущак, О. В. Денефіль // Медична та клінічна хімія. – 2014. – Т. 16, № 3. – С. 61–65.
2. Довжикова І. В. Изменение активности цитохромоксидазы и сукцинатдегидрогеназы в плаценте при беременности, осложненной обострением герпес-вирусной инфекции / И. В. Довжикова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. – № 39. – С. 19–21.



3. Енергозабезпечення тканин зябер та печінки риб за дії йонів цинку, кадмію / Ю. І. Сеник, І. Ю. Найко, Т. В. Маркова [та ін.] // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. – 2012. – № 4 (53). – С. 115–121.
4. Козак Х. І. Основні причини надлишкової маси тіла серед населення Тернопільської області / Х. І. Козак, М. І. Марущак, О. В. Денефіль // Медсестринство. – 2014. – № 1. – С. 17–21.
5. Литвицкий П. Ф. Патологическая физиология / П. Ф. Литвицкий. – М., 2003. – 752 с.
6. Определение активности сукцинатдегидрогеназы // Современные методы в биохимии / Под. ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 44.
7. Яремчук О. З. Зміни біохімічних показників печінки та нирок при експериментальному панкреатиті та за дії модуляторів синтезу оксиду азоту і рекомбінантної супероксиддисмутази / О. З. Яремчук, К. А. Посохова // Український біохімічний журнал. – 2011. – Т. 83, № 4. – С. 57–66.
8. Antioxidant response and oxidative damage in brain cortex after high dose of pilocarpine / S. Tejada, A. Sureda, C. Roca [et al.] // Brain Res. – 2007. – Vol. 71. – P. 372–375.
9. Dudina Yu.V. Effect of Kainate-Induced Experimental Epilepsy on NADPH-Diaphorase and Calcium-Binding Proteins in Rat Hippocampal Neurons / Yu.V. Dudina // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2005. – Vol. 139, № 3. – P. 309–312.
10. Dudina Yu.V. Histoensymology of cytotoxic and neuroprotective mechanisms in the human temporal cortex at status epilepticus / Yu.V. Dudina // Neuroscience for medicine and psychology. Second International Interdisciplinary Congress. Sudak, Crimea, Ukraine, June 10–21. – 2006. – P. 85–86.
11. Jeyakumar S. M. Chronic dietary vitamin A supplementation regulates obesity in an obese mutant WNIN/Ob rat model / S. M. Jeyakumar, A. Vajreswari, N. V. Giridharan // Obesity. – 2006. – Vol. 14. – P. 52–59.



12. Lemire J. Zinc toxicity alters mitochondrial metabolism and leads to decreased ATP production in hepatocytes / J. Lemire, R. Mailloux, V. D. Appanna // J. Appl. Toxicol. – 2008. – Vol. 28. – P. 175–182.

13. Straus W. Colorimetric microdetermination of cytochrome c oxidase / W. Straus // J. Biol. Chem. – 1954. – Vol. 207, № 2. – P. 733.

14. Yamaguchi M. Role of zinc as an activator of mitochondrial function in rat liver / M. Yamaguchi, M. Kura, S. Okada // Biochem Pharmacol. – 1982. – Vol. 31 (7). – P. 1289–1293.

15. Zn²⁺ inhibits α -ketoglutarate-stimulated mitochondrial respiration and the isolated α -ketoglutarate dehydrogenase complex / A. M. Brown, B. S. Kristal, Michelle S. Efron [et al.] // The Journal of Biological Chemistry. – 2000. – Vol. 275. – P. 13441–13447.

НАРУШЕНИЕ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ ТКАНИ ПЕЧЕНИ КАК ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ АЛИМЕНТАРНОГО ОЖИРЕНИЯ

О. П. Мялюк, И. Н. Клищ, В. В. Заяц, М. И. Марущак

Аннотация. На основании полученных данных в статье можно с определенной вероятностью утверждать, что негативное влияние на функционирование цикла трикарбоновых кислот при алиментарном ожирении оказывает медь, поскольку активность цитохромоксидазы уменьшается по мере роста содержания меди в ткани печени ($r_{xy} = (-0,65)$, $p < 0,05$). Низкое содержание цинка в печени не имеет положительного влияния на активацию энергообеспечения клетки.

Ключевые слова: экспериментальное ожирение, сукцинатдегидрогеназа, цитохромоксидаза

VIOLATION OF THE LIVER TISSUE ENERGY SUPPLY AS A WAY OF ALIMENTARY OBESITY

O. P. Myalyuk, I. M. Klishch, V. V. Zaets, M. I. Marushchak

Abstract. In the article, on the basis of these data we can assert with a certain probability that the negative impact on the functioning of the citric acid cycle in the alimentary obesity has copper, because cytochrome oxidase activity decreases with increasing of copper content in the liver tissue ($r_{xy} = (-0,65)$, $p < 0,05$). Lower zinc content in the liver does not have a positive influence on the cell energy activation.



Key words: *experimental obesity, succinate dehydrogenase, cytochrome oxidase*