

## Респираторная активность митохондрий печени крыс при воздействии *трет*-бутилгидропероксида

УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы», Гродно, Республика Беларусь

Выяснение взаимосвязи структуры и функций отдельных биомолекул может служить основой для раскрытия как молекулярных механизмов химических процессов, лежащих в основе состава и функций отдельных клеток и целостного организма, - так и процессов, обеспечивающих биологическую индивидуальность живых организмов. Окислительный стресс, генерируемый *трет*-бутилгидропероксидом (tBHP), аналогом гидроперекисей липидов, приводит к митохондриальной дисфункции: генерации активных форм кислорода, истощению GSH, окислению мембранных липидов, повреждению компонентов электрон-транспортной цепи.

**Целью** работы является изучение влияния модельного окислительного агента tBHP на респираторную активность митохондрий печени крыс.

**Материалы и методы исследования.** Материалом для исследования являлись митохондрии печени крыс. Митохондрии изолировали методом дифференциального центрифугирования [1]. Печень быстро извлекали на холоду (4°C), осушали фильтровальной бумагой, взвешивали и гомогенизировали в гомогенизаторе (тефлон-стекло) (600 об/мин, 1 мин) в охлажденной среде выделения, содержащей 0,25 М сахарозы, 0,02 М Трис-HCl, pH 7,2. Ядерную фракцию удаляли центрифугированием при 600 g в течение 10 мин при 4 °С. Для осаждения митохондрий полученный супернатант центрифугировали при 8500 g в течение 10 мин при 4 °С, далее митохондриальный осадок дважды промывали в среде выделения при 4 °С и ресуспендировали в среде выделения таким образом, чтобы концентрация белка составила 40-50 мг/мл. Концентрацию белка определяли по методу Лоури [2]. Потребление кислорода митохондриями измеряли полярографически, используя термостатируемую ячейку объемом 3 мл и электрод Кларка (Oxytherm plus, Hansatech Instruments, Great Britain) при 25°C в буфере дыхания, содержащем 175 mM сахарозы, 50 mM KCl, 10 mM фосфатный буфер, 20 mM Трис (pH 7,4), 2 mM MgSO<sub>4</sub> [3].

**Результаты.** Окислительный стресс, индуцируемый tBHP в невысоких концентрациях (65–200 мкМ), приводил к полному нарушению респираторной и синтетической активности митохондрий в среде, не содержащей EDTA (этилендиаминтерауксусная кислота). Мы наблюдали уменьшение скорости АДФ-стимулируемого дыхания и увеличе-

ние скорости субстрат-стимулируемого дыхания при использовании глутамата и в качестве субстрата дыхания. Коэффициент акцепторного контроля вследствие полного разобщения процессов окисления и фосфорилирования достигал 1, а коэффициент фосфорилирования уменьшался до 0 при концентрации tBHP (65–200 мкМ) в присутствии глутамата в качестве субстрата дыхания.

**Выводы.** Таким образом, при окислительном воздействии *трет*-бутилгидроперекиси наблюдали интенсивное нарушение респираторной активности митохондрий, что соответствует данным других авторов [4, 5]. Нами показано, что в отсутствие EDTA полное разобщение процессов окисления и фосфорилирования при использовании субстратов I комплекса дыхательной цепи происходит при уже низких концентрациях окислителя (60–200 мкМ). Уровень нарушений митохондрий увеличивался с возрастанием концентрации *трет*-бутилгидроперекиси.

#### Литература

1. Johnson, D. Isolation of liver or kidney mitochondria / D. Johnson, H. A. Lardy // *Methods in Enzymology*. – 1967. – Vol. 10. – P. 94–101.
2. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.
3. Oxygen-related processes in red blood cells exposed to tert-butyl hydroperoxide / I. K. Dremza [et al.] // *Redox Report*. – 2006. – Vol. 11, № 4. – P. 185–192.
4. Kriváková, P. Inhibitory effect of t-butyl hydroperoxide on mitochondrial oxidative phosphorylation in isolated rat hepatocytes / P. Kriváková, A. Lábajová, Z. Cervinková, Z. Drahotá // *Physiol Res*. – 2007. – Vol. 56, № 1. – P. 137–140.
5. Tert-butyl hydroperoxide selectively inhibits mitochondrial respiratory-chain enzymes in isolated rat hepatocytes / Z. Drahotá [et al.] // *Physiol Res*. – 2005. – Vol. 54, № 1. – P. 67–72.