

Вплив капікору на патогенетичні ланки хвороби Паркінсона

І.М. Маньковська¹, К.В. Розова¹, О.О. Гончар¹, В.І. Носар¹, Л.В. Братусь¹,
Т.І. Древицька¹, І.Д. Глазирін¹, Н.В. Карасевич², І.М. Карабань²

¹Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ: e-mail: mankovsk@biph.kiev.ua

²ДУ «Інститут геронтології ім.Д.Ф.Чеботарьова НАМН України», Київ

Вивчали вплив препарату капікор, який складається з мельдонію дигідрату та γ -бутиробетайну дигідрату, на розвиток мітохондріальної дисфункції та оксидативного стресу у людей з хворобою Паркінсона. Для цього досліджували про- та антиоксидантний баланс плазми крові, морфофункціональний стан мітохондрій тромбоцитів та зміни експресії гена Паркін у лейкоцитах крові людей з цим захворюванням. Показано, що у хворих виявляються морфологічні ознаки мітохондріальної дисфункції, які виражаються в деструктивних ураженнях структури мітохондрій (вакуолізація, лізис мембран, поява септованих органел). Після лікування капікором знижувалися прояви цих деструктивних уражень та реєструвалися адаптивні перебудови мітохондріального апарату тромбоцитів, які направлені на покращення умов і механізмів споживання кисню тканинами (зростання кількості у 3,5 раза, середнього діаметра на 26,7 % та збільшення площі мітохондрій на 12 %, перебудова крист у більш енергоємну форму, інтенсифікація мітохондріального біогенезу, підвищення рівня аутофагії та злиття мітохондрій). Також зменшувалася вираженість оксидативного стресу, про що свідчить зниження вмісту малонового діальдегіду на 35 % та зростання активності антиоксидантного ферменту глутатіонпероксидази на 14 % в плазмі крові. Встановлене різке підвищення (майже у 20 разів) експресії гена Паркін при дії капікору вказує на посилення протеасомного протеолізу субстратів Е3-убіквітинлігази з можливим зменшенням вираженості нейродегенерації.
Ключові слова: хвороба Паркінсона; мітохондрії; оксидативний стрес; ген Паркін; капікор.

ВСТУП

Мітохондріальна дисфункція та оксидативні пошкодження є центральними ланками патогенезу нейродегенеративних захворювань, які характеризуються прогресуючою загибеллю різних типів нейронів [1, 2]. Хвороба Паркінсона (ХП) є однією з найбільш соціально значимих і розповсюджених, за частотою поширення серед населення поступається лише хворобі Альцгеймера. Нейродегенеративні зміни при ХП торкаються, в першу чергу, дофамінергічних нейронів компактної частини substantia nigra та стріатуму, виражена дегенерація була зареєстрована також у базальних гангліях і ядрах стовбур мозку, менша – у гіпокампі, корі та мозочку [3]. Спектр мітохондріальних дисфункцій при

ХП включає інгібування НАДН-оксидазного шляху окиснення, гіперпродукцію активних форм кисню, підвищення рівня перекисного окиснення ліпідів та оксидації білків, зниження продукції АТФ, порушення Ca^{2+} -регулюючих систем, відкривання мітохондріальної пори, пертурбації мітохондріальної динаміки, дисрегуляцію мітохондріального кліренсу тощо [4]. Це було продемонстровано як у мозку, лімфоцитах і тромбоцитах хворої людини, так і на токсичних та генетичних експериментальних моделях ХП [5].

Одним із інформативних методів виявлення морфологічних основ мітохондріальної дисфункції є електронна мікроскопія з наступним морфометричним аналізом [6]. Хоча кардинальні ознаки ХП пов'язані з дегенеративними змінами клітин центральної

нервової системи, проапоптотичні модифікації та альтерації активності убіквітинпротеасомної системи були визначені в лімфоцитах периферичної крові пацієнтів [7]. Також відмічено, що лейкоцити крові можуть використовуватися для вивчення модифікацій у рецепторній та нейротрансмітерній системах при нейродегенеративних захворюваннях. Так, при ХП редукція імунореактивності допамінового транспортера була зареєстрована в лейкоцитах периферичної крові [8]. Для морфологічних досліджень важливих ланок патогенезу ХП застосовуються також тромбоцити периферичної крові, які містять певну кількість мітохондрій. Це дає змогу вивчати структуру і функції цих органел при розвитку патологічних станів різного генезу [9].

Нещодавні успіхи в дослідженні генетики ХП продемонстрували, що продукти деяких ХП-асоційованих генів, а саме α -синуклеїну (*SNCA*), *PARK2* (Паркін), *PARK5* (*UCHL1*), *PARK6* (*PINK1*), *PARK7* (*DJ-1*), *PARK8* (*LRRK2*) та *PARK9* (*ATP13A₂*), частково локалізовані в мітохондріях. Серед них одну із головних ролей відіграє ген Паркін (*PARK2*) [10, 11]. Як відомо, він функціонує як E3-убіквітинлігаза та каталізує убіквітування пошкоджених білків, які потім піддаються протеасомній деградації. Отже, зміни експресії гена *Паркін* можуть призводити до порушення процесів убіквітування та накопичення в клітині білків, які є його субстратами, а це, в свою чергу, може призводити до загибелі нейронів.

Визначення в плазмі крові хворих на ХП порушень про- та антиоксидантного балансу характеризує вираженість оксидативного стресу та ефективність антиоксидантного захисту. Це дасть змогу довести ефективність препаратів з антигіпоксичними та антиоксидантними властивостями при лікуванні пацієнтів з ХП. Ефективність застосування капікору при лікуванні пацієнтів з ХП була нещодавно встановлена, але його вплив на основні патогенетичні ланки ХП вивчений ще недостатньо [12].

Метою нашої роботи було вивчення дії капікору на про- та антиоксидантний баланс плазми крові, морфофункціональний стан мітохондрій тромбоцитів та зміни експресії гена *Паркін* в лейкоцитах крові людей, хворих на ХП.

МЕТОДИКА

Обстежені 22 пацієнти (чоловіки та жінки віком від 55 до 75 років з тривалістю хвороби $5,7 \pm 0,9$ років) мали встановлений діагноз ХП згідно з критеріями „включення-виключення” Британського банку мозку [13] зі стадією хвороби за Hoehn/Yahr 2,0-3,0; знаходилися на базисній терапії леводопамісними препаратами в комбінації з іншими протипаркінсонними препаратами (агоніст дофамінових рецепторів, амантадин, холінолітики). До контрольної групи входили 10 здорових осіб, рандомізованих за статтю та віком. Пацієнтам з ХП на тлі базисної терапії був проведений курс лікування препаратом капікор – 180 мг мельдонію дигідрату та 60 мг γ -бутиробетаїну дигідрату в капсулі (схема вживання препарату: 2 капсули на добу протягом 2 міс). Усі обстежені особи представили письмову інформовану згоду на проведення досліджень.

Дослідження ультраструктури тромбоцитів проводили в тромбоцитарній масі, вилученій із крові обстежених осіб до і після курсу лікування препаратом капікор. Збагачену тромбоцитами плазму одержували за допомогою центрифугування цільної крові при кімнатній температурі протягом 15 хв при 120 g на центрифугі лабораторній Т-30 (Україна). Плазму ретельно відділяли від осаджених клітин і центрифугували при 2000 g протягом 20 хв за допомогою міні-центрифуги Vortecs Combispin FVL-2400N (Латвія) [9].

Препарати для електронно-мікроскопічних досліджень готували за загальноприйнятою методикою для клітин крові з подвійною фіксацією глутаральдегідом і OsO_4 , зневоднюванням спиртами зростаючої

концентрації та наступною заливкою в ероп-агальдате (реактиви фірми „Fluka”, Швейцарія) [14]. Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм, контрастовані 1 %-м розчином уранілацетату і розчином цитрату свинцю („Sigma”, США), досліджували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-124С (Україна). Морфометричну оцінку виконували відповідно до підходів Вейбеля [15] із застосуванням комп’ютерної програми „Image Tool Version 3” (США) на 130-150 полях для кожної групи обстежуваних.

Вміст активних продуктів 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП) визначали спектрофотометрично [16]. Метод оснований на здатності 2-тіобарбітурової кислоти реагувати з малоновим діальдегідом (МДА). Активність антиоксидантного ферменту глутатіонпероксидази (ГП) оцінювали за вмістом відновленого глутатіону в 1 мл плазми крові при довжині хвилі 412 нм [17]. Активність Cu,Zn-СОД в плазмі крові визначали за методом Misra, Fridovich [18]. Біохімічні дослідження проводили із застосуванням реактивів “Sigma-Aldrich”, США.

Для оцінки змін експресії гена *Паркін* застосовували метод полімеразно-ланцюгової реакції у реальному часі, яку проводили на термоциклері “7500 Fast Real-time PCR” (“Applied Biosystems”, США). Використовували зонди TaqMan@Gene Expression Assay (“Applied Biosystems”, США) для гена *Паркін* (Rn00571787_ml). Результати нормалізували за експресією конститутивного гена *GADPH* (гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа), використовуючи TaqMan Rodent *GADPH* Control Reagent (VICTMProbe). Програма для ампліфікації складалася із таких циклів: початкова денатурація при 95°C протягом 20 с, а потім 95°C 30 с та 60°C 30 с повторювалися 50 разів. Результати експресії мРНК представлені у вигляді Mean±SEM.

Статистичну обробку отриманих морфологічних та біохімічних результатів виконували за допомогою програми «Microsoft Excel 2003» із застосуванням критерію t Ст’юдента.

Результати представлені як середнє значення ± похибка середнього (M±m), оскільки завдяки значному масиву отриманого цифрового матеріалу, а також відповідно до критерію Шапіро-Уїлкі, вони вміщувалися до нормального закону розподілу Максвелла. Різницю між середніми значеннями вважали статистично значущою при P<0,05. У генетичних дослідженнях різницю між показниками до і після вживання препарату капікор визначали за допомогою дисперсійного аналізу із повторними вимірюваннями (Repeated Measures Anova) з наступним застосуванням тесту Bonferroni. Результати вважали значущими при P<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Електронно-мікроскопічне та морфометричне дослідження особливостей мітохондріального апарату тромбоцитів виявило, що у здорових людей (контроль) і в осіб з ХП в тромбоцитах спостерігали поодинокі мітохондрії (таблиця). Але, незважаючи на незначну їх кількість, є можливість вивчати вплив на їх ультраструктуру та морфометричні показники досліджуваного препарату. Встановлено, що мітохондрії тромбоцитів у контрольній групі відрізнялись електронно-щільним матриксом, були добре структуровані, що свідчить про їх можливість ефективно здійснювати синтез макроергічних сполук. Діаметр і площа мітохондрій у пацієнтів з ХП вірогідно не відрізнялися від таких показників у контрольній групі (див. таблицю). Водночас у хворих були виявлені значні ультраструктурні пошкодження мітохондрій. При цьому спостерігалася втрата чіткості мембран (зовнішньої та/чи внутрішньої, кристоутворюючої), часткова вакуолізація, просвітлення матриксу, а також поява септованих органел (рис.1).

Механізми та причини утворення септованих мітохондрій до нині є мало дослідженими. Припускають, що цей процес подібний до ретенції, викликаній порушеннями транспор-

Морфометричні показники мітохондрій тромбоцитів у пацієнтів з хворобою Паркінсона після лікування капікором (M±m)

Групи пацієнтів	Кількість мітохондрій у клітині, шт./10 мкм ²	Середній діаметр мітохондрій, мкм	Середня площа мітохондрій, мкм ²
Контроль	2,7±0,6	0,60±0,04	48,8±3,9
До лікування	2,1±0,8	0,56±0,03	43,8±2,6
Після лікування	7,4±1,1*, **	0,71±0,04*, **	56,7±2,4*, **

* різниця з контрольною групою вірогідна (P<0,05);

** різниця між групами до і після лікування вірогідна (P<0,05)

ту метаболітів між внутрішньою мембраною мітохондрій та цитоплазмою, крім того вважають, що септовані мітохондрії більш здатні акумулювати Ca²⁺ [19]. Оскільки відомо, що акумуляція Ca²⁺ та синтез АТФ – альтернативні процеси, пов'язані з переносом електронів у дихальному ланцюгу, то посилення Ca²⁺-акумулюючої здатності мітохондрій може вказувати на зменшення синтезу АТФ в них. Крім того, існує думка, що поява септованих мітохондрій свідчить про парціальний некроз клітини. Наразі вважають, що модуляції експресії гена *OPA1* впливають на утворення мітохондрій з подібною формою крист, а також на дихальний контроль мітохондрій *in vivo* [20]. Вказані зміни ультраструктури мітохондрій є свідченням формування в тромбоцитах мітохондріальної дисфункції.

У пацієнтів з ХП після лікування капіко-

ром встановлений позитивний вплив препарату на мітохондріальний апарат тромбоцитів. По-перше, у 3,5 раза зростала загальна кількість мітохондрій, по-друге, на 26,7 % збільшився середній діаметр мітохондрій, які до того ж відрізнялися електронно-щільним матриксом і були добре структуровані; зростала також середня площа мітохондрій (на 29,5 %) (див. таблицю). Подібні зміни можна розглядати як помірне набрякання мітохондрій з малою амплітудою (яка не перевищує 30-40 %), що супроводжується посиленням енергетичних можливостей зі зворотною альтерацією протеїнових структур [19].

Особливістю впливу препарату є його здатність інтенсифікувати морфогенез мітохондрій (див. таблицю) та процес їх продольної асоціації (тобто злиття, *fusion*) з утворенням органел, середній діаметр яких

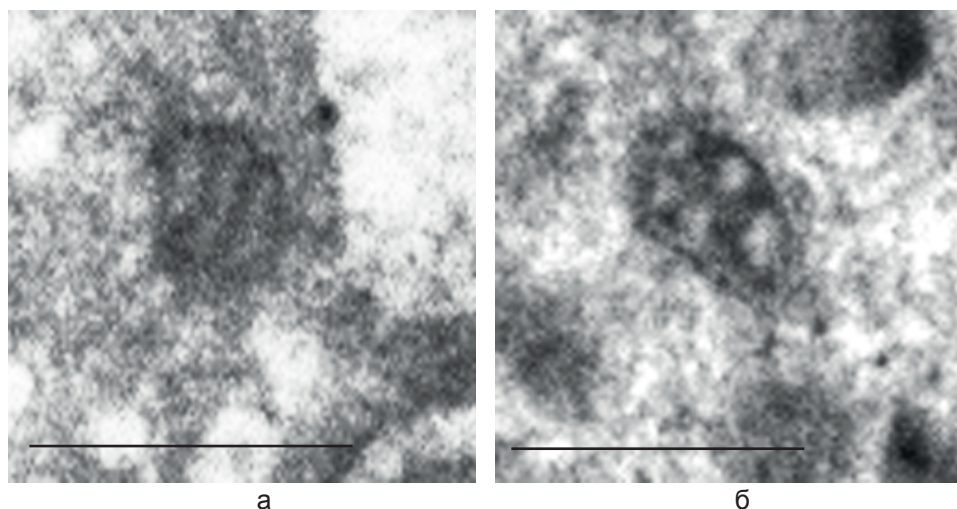


Рис. 1. Особливості ультраструктури мітохондрій тромбоцитів при хворобі Паркінсона: а – контрольна група, б – утворення септованих мітохондрій у пацієнтів з ХП. Масштабна лінія відповідає 1 мкм

сягав 1 мкм, а співвідношення максимального та мінімального діаметрів подекуди становило 1:7. Такі зміни динамічних процесів у мітохондріях (перевага злиття) можуть призводити до активації міжмітохондріального обміну для оптимізації роботи пошкоджених мітохондрій, що є одним із способів захисту мітохондріальної популяції [21]. Також спостерігалася значна кількість органел з дугоподібними кристами. Такі зміни вважають свідченням зростання енергетичних можливостей мітохондрій [22]. Після застосування капікору кількість септованих мітохондрій в тромбоцитах значно зменшувалася: вони являли собою лише поодинокі випадки. Водночас відмічалася значне збільшення інтенсивності аутофагії мітохондрій (кількість мітохондрій в стані аутофагії зростала у 2,5-3,7 рази залежно від типу клітини), (рис.2).

Аутофагія – один із засобів позбавлення клітин від пошкоджених органел через лізосомальну деградацію та один з механізмів адаптації до широкого спектра несприятливих умов існування клітин. Тому інгібування аутофагії часто призводить до апоптотичної або некротичної загибелі клітини загалом. Така ситуація спостерігається в патогенезі низки захворювань, зокрема й нейродегенера-

тивних [23]. Аутофагія сприяє підтриманню високих концентрацій АТФ в клітині, підвищує її здатність протистояти метаболічному стресу, обмежує накопичення потенційно токсичних білків (в тому числі протеотоксинів), що викликають нейродегенерацію [24]. Отже, отримані результати щодо морфофункціональних характеристик мітохондрій свідчать про те, що капікор може ефективно знижувати вираженість мітохондріальних порушень, впливаючи тим самим на механізми, котрі сприяють розвитку ХП.

При дослідженні впливу капікору на про- та антиоксидантний баланс у плазмі крові хворих були одержані такі результати. До лікування у плазмі крові реєстрували збільшення на 76 % вмісту вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів відносно контрольної групи ($P < 0,05$) на тлі зниження активності антиоксидантного ферменту глутіонпероксидази на 16,3 % ($P < 0,05$) (рис. 3, а, б). Активність Cu,Zn-СОД у хворих мала тенденцію до підвищення порівняно з аналогічним показником у здорових людей (рис.3, в). Після лікування інтенсивність окисних процесів у крові хворих значно знизилася. Про це свідчить зниження в плазмі крові пацієнтів вмісту ТБК-АП на 35 % ($P < 0,05$) і підвищення активності глу-

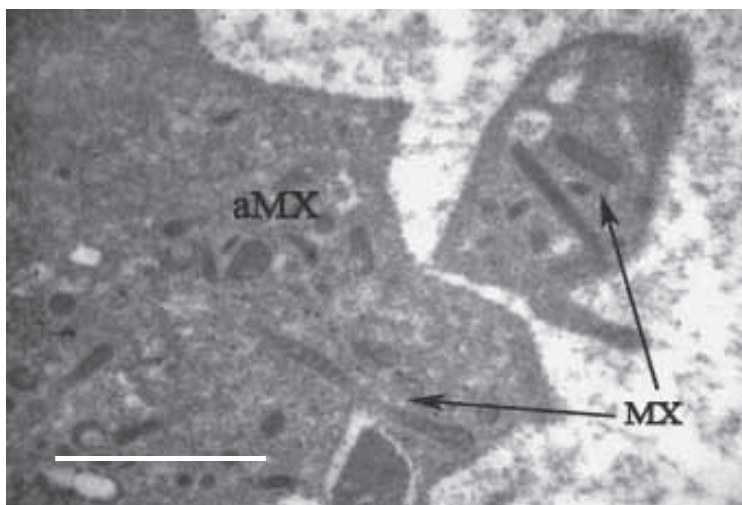


Рис. 2. Мітохондральний апарат тромбоцитів у пацієнтів з хворобою Паркінсона при застосуванні Капікору. MX - мітохондрії, aMX – аутофагія мітохондрій. Масштабна лінія відповідає 1 мкм

татіонпероксидази на 14 % ($P < 0,05$) порівняно з показниками до лікування; активність Cu,Zn-SOD залишалася така сама, як у контролі (див. рис. 3, а, б, в).

Таким чином, застосування капікору призводило до відновлення балансу між прооксидантною системою за рахунок зниження вмісту малонового діальдегіду (ТБК-

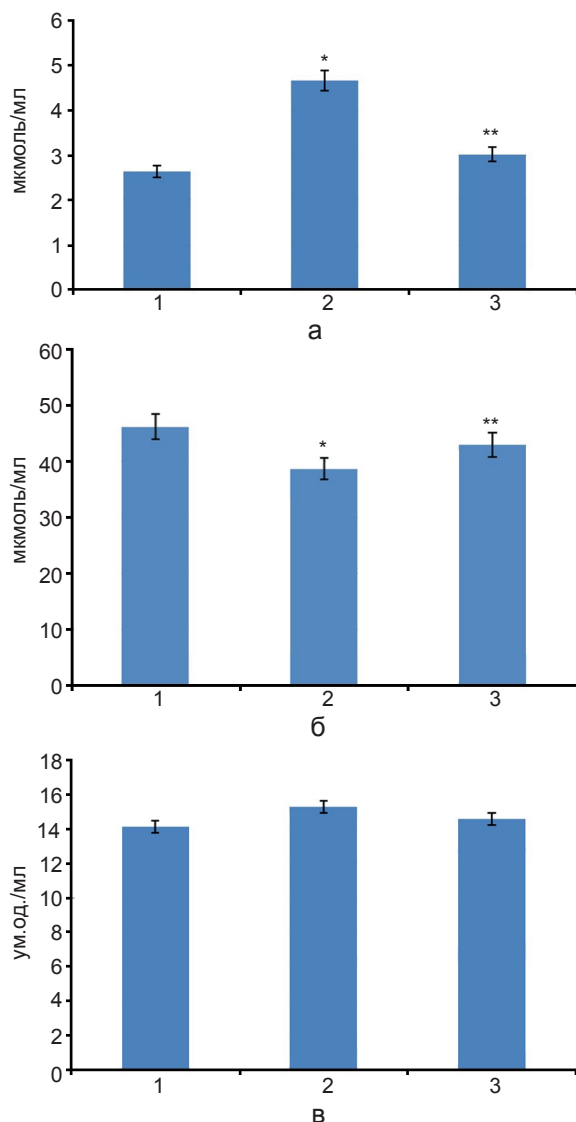


Рис. 3. Вміст активних продуктів 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП) (а), активність глутатіонпероксидази (б) та Cu,Zn-SOD (в) в плазмі крові пацієнтів з хворобою Паркінсона до та після лікування Капікором: 1 – контроль; 2 – до лікування; 3 – після лікування. * $P < 0,05$ порівняно з контролем; ** $P < 0,05$ порівняно з групою пацієнтів до та після лікування

АП) та антиоксидантною системою захисту внаслідок підвищення активності глутатіонпероксидази. Можна зробити висновок, що капікор сприяє нормалізації глутатіонові системи антирадикального захисту, можливо заміщуючи відновлений глутатіон у реакціях, які забезпечуються глутатіонпероксидазою.

Наші подальші дослідження були пов'язані з вивченням експресії мРНК гена *Паркін* в лейкоцитах крові людей, хворих на ХП, до і після застосування капікору. Була встановлена статистично значуща різниця в рівні експресії гена *Паркін* до та після терапії. Відносний рівень експресії мРНК гена *Паркін* становив $10,53 \pm 5,52$ ум. од., а після застосування препарату зріс до $195,39 \pm 67,29$ ум. од., тобто майже в 20 разів ($P < 0,05$).

У сучасній літературі є багато даних про те, що *Паркін* може відігравати роль комплексного нейропротективного білка при цілій низці токсичних уражень, які є критичними для життєздатності дофамінергічних нейронів [11]. Однак захисні функції гена *Паркін* можуть бути значно послаблені внаслідок виявлення посттрансляційних модифікацій, які призводять до послаблення E3-лігазної активності при оксидативному стресі [25]. Ген *Паркін* здатний впливати на мітохондріальні функції та біогенез мітохондрій через посилення транскрипції і реплікації мітохондріальної ДНК [26]. Відсутність синтезу цього білка у мишей з відповідною мутацією призводить до зменшення експресії деяких генів, пов'язаних з функціонуванням мітохондрій та розвитком оксидативного стресу, включаючи гени, які кодують субодиниці мітохондріальних комплексів I і IV [27]. Таким чином, збільшення експресії гена *Паркін* свідчить про зростання його нейропротекторної функції зі зменшенням проявів оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції, а також підвищенням мітохондріального біогенезу.

Вже згадувалось, що продукт гена *Паркін* – це E3-убіквітинлігаза, до субстратів якої належить чимала кількість білків, зокрема та-

ких як α -синуклеїн, синаптотегмін 9, циклін Е, синфілін 1 тощо. Відомо, що знайдений в тільцях Леві α -синуклеїн активно взаємодіє з цим геном. Отже ріст експресії мРНК Паркіну після терапії капікором може призводити до підвищення протеасомного протеолізу вище зазначених субстратів і таким чином покращувати стан хворих на ХП, хворобу Альцгеймера та інші нейродегенеративні захворювання, а також уповільнювати їх прогресування.

ВИСНОВКИ

1. Застосування препарату капікор у хворих на ХП призводить до пригнічення морфологічних проявів мітохондріальної дисфункції, а саме до: зменшення деструктивних уражень структури мітохондрій (вакуолізація, лізис мембран, поява септованих органел) та виражених адаптивних перебудов мітохондріального апарату тромбоцитів, що спрямовані на покращення умов і механізмів споживання кисню тканинами і проявляються у збільшенні кількості та площі мітохондрій, перебудові крист у більш енергоємну форму, інтенсифікації мітохондріального біогенезу, підвищенні рівня аутофагії мітохондрій.

2. Зміни динамічних властивостей мітохондрій при дії капікору проявляються у переважанні процесів злиття (fusion) мітохондрій, про що свідчить збільшення поздовжнього діаметра мітохондрій, їх гуртування одна біля одної. Ці зміни спрямовані на репарацію пошкоджених мітохондрій.

3. Застосування капікору призводить до відновлення в плазмі крові хворих на ХП балансу між прооксидантною системою внаслідок зниження вмісту малонового діальдегіду (ТБК-АП) та антиоксидантною системою захисту за рахунок підвищення активності глутатіонпероксидази; капікор сприяє нормалізації глутатінової системи антирадикального захисту, можливо заміщаючи відновлений глутатіон в реакціях,

які забезпечуються глутатіонпероксидазою.

4. Збільшення експресії гена *Паркін* у лейкоцитах крові хворих на ХП під впливом капікору свідчить про зростання нейропротекторної функції Паркіну зі зменшенням проявів оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції, підвищенням мітохондріального біогенезу, а також посиленням протеасомного протеолізу субстратів Е3-убіквітинлігази.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co authors of the article.

I.M.Mankovska¹, K.V.Rosova¹, O.O.Gonchar¹, V.I.Nosar¹, L.V.Bratus¹, T.I.Drevitska¹, I.D. Glazyrin¹, N.V.Karasevich², I.M.Karaban²

EFFECT OF CAPICOR ON THE PARKINSON'S DISEASE PATHOGENIC LINKS

It was studied the influence of Capicor (containing Meldonium dihydrate and gamma-butyrobetain dihydrate) on the mitochondrial dysfunction and oxidative stress development in humans with Parkinson's disease. The aim of the present work was to investigate the pro- and antioxidant balance of blood plasma, the morphofunctional state of blood platelets as well as the *Parkin* gene expression changes in blood leukocytes of patients with Parkinson's disease before and after Capicor treatment. It was registered the morphological sings of mitochondrial dysfunction (vacuolization, membrane lysis, septiration) in patients with Parkinson's disease. After Capicor treatment, there was demonstrated a decrease in these destructive changes as well as restructuring of the platelets mitochondrial apparatus (an increase in the mitochondrial number and area, the mitochondrial biogenesis intensification, a rise of autophagy and fusion of mitochondria). These changes are favoring the growth of the energy power of mitochondria. Under the influence of Capicor, there was demonstrated a reduction in oxidative stress expressiveness (a decrease in blood malon dialdehyde content and a rise in blood glutathione peroxidase activity). After Capicor treatment, there was shown the significant increase in the *Parkin* gene expression in leukocytes of patients with Parkinson's disease. This increase account for the intensification of the E3-ubiquitin-ligase-substrates proteasomal degradation which are thought to contribute to neuronal cell death.

Key words: Parkinson's disease; mitochondria; oxidative stress; *Parkin* gene; Capicor.

¹*O.O.Bogomoletz Institute of Physiology. National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev;*

²*D.F. Chebotarev Institute of Gerontology National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev.*

И.Н. Маньковская, Е.В. Розова, О.А. Гончар, В.И. Носарь, Л.В. Братусь, Т.И. Древицкая, И.Д. Глазырин, Н.В. Карасевич, И.Н. Карабань

ВЛИЯНИЕ КАПИКОРА НА ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗВЕНЬЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Изучали влияние препарата капикор, в состав которого входят мельдоний дигидрат и гамма-бутиробетаин дигидрат, на развитие митохондриальной дисфункции и оксидативного стресса у людей с болезнью Паркинсона. С этой целью исследовали про- и антиоксидантный баланс плазмы крови, морфофункциональное состояние митохондрий тромбоцитов, а также изменения экспрессии гена *Паркин* в лейкоцитах крови людей с болезнью Паркинсона до и после лечения капикором. Показано, что у больных проявляются морфологические признаки митохондриальной дисфункции, которые выражаются в деструктивных изменениях структуры митохондрий (вакуолизация, лизис мембран, появление септированных органелл). После лечения капикором наблюдается снижение выраженности этих деструктивных поражений и регистрируются адаптивные перестройки митохондриального аппарата тромбоцитов, направленные на улучшение условий и механизмов потребления кислорода тканями (увеличение количества и площади митохондрий, перестройка крист в более энергоемкую форму, интенсификация митохондриального биогенеза, повышение уровня аутофагии и слияния митохондрий). Под влиянием капикора уменьшается выраженность оксидативного стресса, о чем свидетельствует снижение содержания малонового диальдегида и повышение активности антиоксидантного фермента глутатионпероксидазы в плазме крови. Установленное резкое повышение экспрессии гена *Паркин* под влиянием капикора указывает на усиление протеасомного протеолиза субстратов E3-убиквитин-лигазы с возможным уменьшением выраженности нейродегенерации. Ключевые слова: болезнь Паркинсона; митохондрии; оксидативный стресс; ген *Паркин*; капикор.

REFERENCES

1. Shadrina MI, Slominsky PA. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage in the molecular pathology of Parkinson's disease. *Mol Biol.* 2008;42(5): 809-19. [Russian].
2. Hudson G. The ageing brain, mitochondria and neurodegeneration. *Mitochondria dysfunction in neurodegenerative disorders.* Springer Int Publishing. 2016;59-80.
3. Ugryumov MV. The new views on pathogenesis, diagnosis

- and treatment of Parkinson's disease. Parkinson's disease and motor dysfunction. Moscow, 2011;158-64. [Russian].
4. Talanov S.A., Timoshtshuk S.V., Rudik O.V. Increase of the mitochondrial pore calcium sensitivity in rat heart under chronic deficit of nigrostriatum dopamine. *Fiziol. Zh.*, 2009;55(5): P.3-8.
5. Schapira AH. Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2008;7: 97-109.
6. Sukhorukov VS. The impairment of the cell energetic metabolism in children. Moscow: Medicine; 2004. [Russian].
7. Bandini F, Cosentino M, Mangiagalli A., et al. Modifications of apoptosis-related protein levels in lymphocytes of patients with Parkinson's disease. The effect of dopaminergic treatment. *J Neural Transm.* 2004;111(8):1017-30.
8. Scherzer CR, Eklund AC, Morse LJ., et al. Molecular markers of early Parkinson's disease based on gene expression in blood. *Proc Nat Acad Sci USA.* 2007;104(3):955-60.
9. Filippova OI, Koloskov AV, Stolitsa AA. Methods for studying the functional activity of platelets. *Transfusiology.* 2012; 13 (2): 493-514. [Russian].
10. Shimura H, Hattori N, Kubo S., et al. Familial Parkinson's disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nature Genet.* 2000;25:302-5.
11. Cookson MR. The biochemistry of Parkinson's disease. *Annu Rev Biochem.* 2005;74:29-52.
12. Rozova KV, Mankovska IM, Gonchar OO, Drevytska TI, Karaban IM, Karasevich NV. The corrective influence of Capicor in experimental parkinsonism and Parkinson's disease. *Ukrains'kyi visnyk psikhonevrolohi.* 2017;25 (1):102-3. [Ukraine].
13. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1992; 55 (3): 181-4.
14. Karupu VYa. The electron microscopy. K.:High school; 1984. [Russian].
15. Tashke K. Introduction to quantitative cyto-histological morphology. Bucharest: Publishing House of the Academy CRR;1980. [Russian].
16. Stalnaya ID, Garishvili TG. Up to date methods in biochemistry. M.;Medicine,1977:66-8.
17. Korolyuk MA, Ivanova LI, Maiorova IG., et al. A method of determining catalase activity. *Lab Delo.* 1988;(1):16-9. [Russian].
18. Misra H, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of Epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972;247(10):3170-5.
19. Sudakova YuV., Bakeeva LE, Tsyplenkova VG. Energy-dependent changes in the ultrastructure of mitochondria of human cardiomyocytes in alcoholic heart disease. *Arch. Pathol.* 1999; (2): 15-20. [Russian].
20. Cogliati S, Frezza C, Soriano ME, Varanita T, Quintana-Cabrera R, Corrado M, Cipolat S, Costa V, Casarin A, Gomes LC, Perales-Clemente E, Salvati L, Fernandez-Silva

- P, Enriquez JA, Scorrano L. Mitochondrial Cristae Shape Determines Respiratory Chain Supercomplexes Assembly and Respiratory Efficiency. *Cell*. 2013; 155 (1): 160-71.
21. Mourier A. Mitochondrial dynamics and neurodegeneration. *Mitochondria dysfunction in neurodegenerative disorders*. Springer Int Publishing. 2016;175-91.
22. Balaban RS. Modeling mitochondrial function *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2006; 291 (6): 1107-13.
23. Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell*. 2011;147(4):728-41.
24. Otten EG, Manni D, Korolchuk VI. Mitochondrial degradation, autophagy and neurodegenerative disease. *Mitochondria dysfunction in neurodegenerative disorders*. Springer Int Publishing. 2016;255-78.
25. Corti O, Lesage S, Brice A. What genetics tells us about the causes and mechanisms of Parkinson's disease. *Physiol Rev*. 2011;91(4):1161-218.
26. Kuroda Y, Mitsui T, Kunishige M., et al. Parkin enhances mitochondrial biogenesis in proliferating cells. *Hum Mol Genet*. 2006;15:883-95.
27. Stichel CC, Zhu XR, Bader V., et al. Mono- and double-mutant mouse models of Parkinson's disease display severe mitochondrial damage. *Hum Mol Genet*. 2007;20:2377-93.

*Матеріал надійшов
до редакції 23.08.2017*