

# Дихання та окисне фосфорилювання мітохондрій тканин щурів за перорального введення таурину

Р.Д. Остапів<sup>1,2</sup>, В.В. Манько<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка;

<sup>2</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, Львів; e-mail: vvmanko@lnu.edu.ua

Досліджували вплив тривалого перорального введення таурину на інтенсивність дихання мітохондрій та окисне фосфорилювання у тканинах печінки, головного мозку, сім'яників і стегнового м'яза щурів. Для цього самців щурів лінії Вістар масою 190–220 г розділили на три дослідні групи, яким щоденно протягом 28 днів вводили питну воду (контрольна група) або розчин таурину у розрахунку 40 чи 100 мг / кг (I та II дослідні групи відповідно). Швидкість дихання визначали полярографічно з використанням електрода Кларка під час окиснення ендогенних субстратів ( $V_1$ ), за додавання екзогенних  $\alpha$ -кетоглутарату (5 ммоль/л) або сукцинату (1 ммоль/л;  $V_4^S$ ), коли додавали АДФ до кінцевої концентрації 200 мкмоль/л ( $V_3$ ) та після використання АДФ мітохондріями ( $V_4^{ATP}$ ). З'ясувалося, що за тривалого введення таурину  $V_1$  зросла у тварин обох дослідних груп у печінці та мозку на 50–60%, проте знижувалась у сім'яниках та м'язах I дослідної групи на 48–73%. У печінці тварин I дослідної групи як за окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату, так і сукцинату  $V_4^S$ ,  $V_3$ , та  $V_4^{ATP}$  були у 4–7 разів вищими за контроль. У печінці тварин II дослідної групи за окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату ці показники були вищими на 57–126 %. У м'язах I дослідної групи у разі додавання  $\alpha$ -кетоглутарату і сукцинату  $V_4^S$ ,  $V_3$ , та  $V_4^{ATP}$  були нижчими на 41,4–60,9 %, у м'язах тварин II дослідної групи під час окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату  $V_3$  була на 23,7 % вища. При додаванні сукцинату  $V_4^S$ , та  $V_4^{ATP}$  зросли на 31–70 % у сім'яниках тварин обох дослідних груп та у мозку I дослідної групи. Однак у мозку тварин II дослідної групи інтенсивність дихання  $V_4^S$  була на 38,3 % нижчою. Отже, вплив тривалого введення таурину на інтенсивність споживання кисню мітохондріями є дозозалежним і тканиноспецифічним і, вочевидь, має різне значення та реалізується різними механізмами.

Ключові слова: таурин; інтенсивність дихання мітохондрій; окисне фосфорилювання; печінка; мозок; сім'яники; стегновий м'яз.

## ВСТУП

Таурин – сірковмісна амінокислота, котра у високих концентраціях є у всіх тканинах хребтних тварин [1]. Печінка, мозок, сім'яники та м'язи – органи, які найбільше його потребують для виконання функцій. Ця сполука синтезується у печінці і наявна там у найвищих концентраціях та утилізується до таурохолевих кислот [2]. Печінка є центральною ланкою у білковому, ліпідному та вуглеводному обміні, а, отже, може бути маркером для визначення ефекту таурину на інтенсивність споживання кисню мітохондріями. У мозку таурин відіграє роль протек-

тора нейронів і може слугувати стимулятором нервової діяльності [3]. Для проходження нормального сперміогенезу та підтримання існування спермій у сім'янику таурин необхідний у мілімолярних концентраціях, які забезпечують антиоксидантний захист та осмотичну регуляцію [4].

Таурин може підвищувати акумуляційну здатність мітохондрій для  $\text{Ca}^{2+}$  у нейронах й запобігати некрозу [5]. Ця сполука взаємодіє з першим комплексом дихального ланцюга мітохондрій мозку, попереджуючи інгібування транспорту електронів [6], і знищує вільні радикали кисню [7]. Однак механізм такої

взаємодії достеменно невідомий. Крім того, таурин запобігає апоптозу, спричиненого гіпоксією, і деструкції мітохондрій [8], підвищує їхній трансмембранний потенціал та інтенсифікує синтез АТФ [8]. Він є постійним складником мтРНК і бере участь у синтезі компонентів дихального ланцюга [9]. Разом з цим високі концентрації цієї сполуки можуть негативно впливати на обмінні процеси, активувати апоптоз клітин [8], а дефіцит чи повна відсутність – спричиняють мітохондріальні захворювання (міопатії, енцефалопатії та лактацидоз) [9].

Метою нашого дослідження було вивчити вплив тривалого перорального введення таурину на особливості мітохондріального дихання, окисного фосфорилування та активність окремих ланок електронно-транспортного ланцюга у різних тканинах шурів.

## МЕТОДИКА

Дослідження проведені на самцях шурів лінії Вістар масою 190–220 г. Тварин ділили на три групи – контрольну та дві дослідні, яким протягом 28 діб щоденно вводили у стравохід розчин таурину у розрахунку 40 (І дослідна група) та 100 (ІІ дослідна група) мг/кг відповідно. Всі маніпуляції з тваринами проводили згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Тварин декапітували під легким хлороформним наркозом і видаляли

печінку, мозок, сім'яники та стегновий м'яз.

Тканини подрібнювали за допомогою гомогенізатора Поттера-Евельгейма при 4°C у співвідношенні 1 г тканини на 5 мл розчину. Для гомогенізації використовували розчини мозку та сім'яників сахарози (250 ммоль/л) [3], для м'язів – KCl (250 ммоль/л) [10], для печінки такого складу (ммоль/л): сахароза – 250, EGTA – 1, HEPES – 10; pH 7,2 [11]. Гомогенат центрифугували протягом 15 хв (2000 g), надосадову рідину відбирали та центрифугували протягом 20 хв (9000 g). Після другого центрифугування супернатант зливали, а осад ресуспендували у середовищі, яке використовували для реєстрації дихання (ммоль/л): сахароза – 250, тріс-HCl – 25,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 10; pH 7,4 [12].

Інтенсивність поглинання кисню мітохондріями визначали полярографічно у термостатованій комірці (25 °C). Швидкість споживання кисню визначали (рис. 1, а, б) за ендогенного дихання (відсутності екзогенних субстратів;  $V_1$  за Чансом [12]), за додавання субстратів окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату у концентрації 5 ммоль/л чи сукцинату у концентрації 1 ммоль/л ( $V_4^S$ ), а також за додавання на фоні екзогенних субстратів АДФ (200 мкмоль/л;  $V_3$ ) та після використання АДФ ( $V_4^{\text{АТФ}}$ ).

На основі отриманих результатів розраховували відношення швидкостей  $V_3/V_4^S$  та  $V_3/V_4^{\text{АТФ}}$  – дихальні контролю (ДК) за Ларді та Чансом, ефективність фосфорилування АДФ/О та час фосфорилування  $t_\phi$ . Вміст білка у суспензії мітохондрій визначали методом Лоурі ( $\lambda_{\text{abc}} = 750 \text{ nm}$ ) [14].

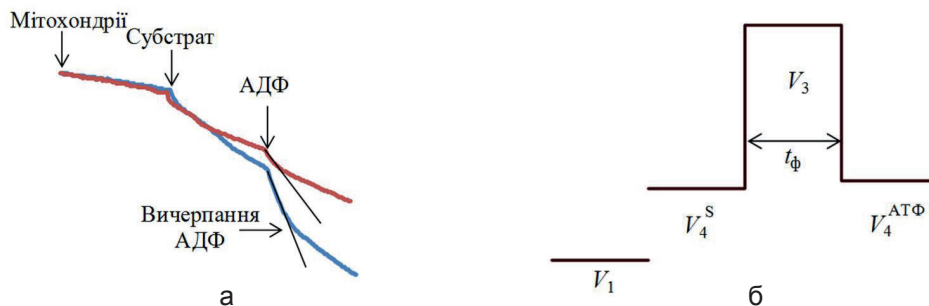


Рис. 1. Протокол експерименту: а – типовий полярографічний запис; б – схема представлення результатів

Результати досліджень на рисунках представлені у вигляді середніх арифметичних значень, а у таблицях – середніх арифметичних значень і їхніх похибок ( $M \pm m$ ), вірогідність змін у всіх визначали за непарним критерієм  $t$  Стюдента [15].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Значення ендogenous дихання ( $V_1$ ) мітохондрій печінки контрольної групи тварин було в межах  $0,087\text{--}0,131$  нмоль  $O_2 \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$  білка. У разі стимулювання активності комплексу I дихального ланцюга  $\alpha$ -кетоглутаратом інтенсивність дихання ( $V_4^S$ ) зросла на 159,3 % ( $P < 0,05$ ). Внесення АДФ ( $V_3$ ) стимулювало окисне фосфорилювання і швидкість споживання кисню збільшувалася порівняно з  $V_4^S$  на 100 % ( $P < 0,01$ ; рис. 2, а). Після використання

АДФ мітохондріями швидкість поглинання кисню ( $V_4^{ATP}$ ) зменшувалася щодо значень  $V_3$  на 65,1 % ( $P < 0,01$ ).

Додавання сукцинату у дихальну камеру спричиняло зростання  $V_4^S$  на 321,3 % ( $P < 0,001$ ). Внесення АДФ підвищило споживання кисню ще на 102,8 % ( $P < 0,01$ ) відносно  $V_4^S$ . Швидкість дихання  $V_4^{ATP}$  знизилася на 52,9 % ( $P < 0,01$ ) порівняно з  $V_3$ .

Розраховані ДК за Ларді та Чансом та коефіцієнт АДФ/О як за окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату, так і сукцинату (табл. 1) згідно з даними літератури були у межах фізіологічної норми [2, 3, 10, 11]. Подібна закономірність спостерігалася і у всіх інших досліджуваних тканинах контрольної та обох дослідних груп. Однак за тривалого введення таурину тваринам суттєво змінювалися швидкості дихання мітохондрій. Зокрема, тривале

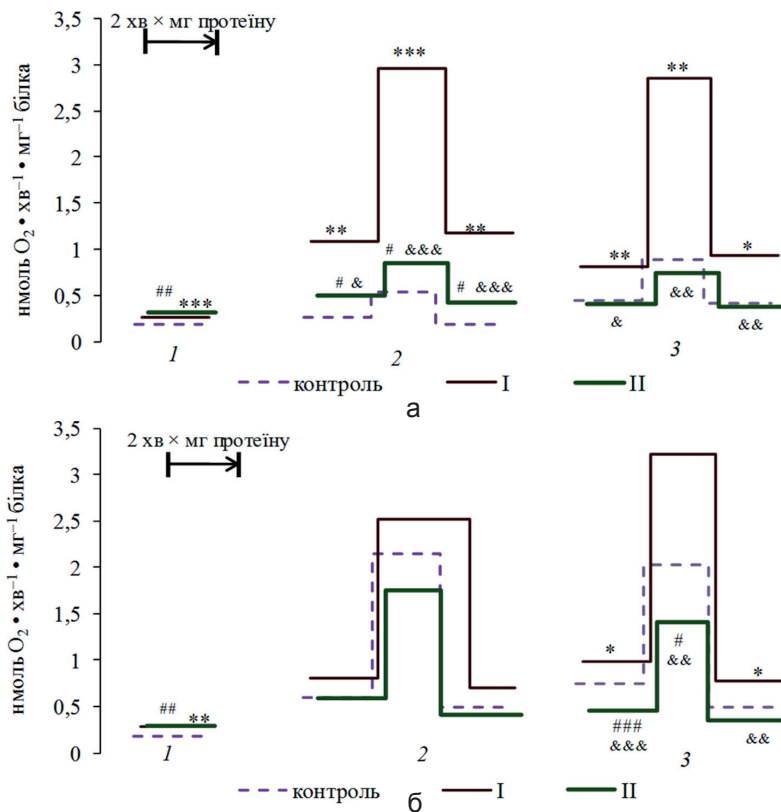


Рис. 2. Інтенсивність дихання мітохондрій: печінки (а) та мозку (б) шурів за ендogenous дихання (1), окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату (2) і сукцинату (3); I – перша дослідна група, II – друга дослідна група, \* статистично вірогідна різниця між показниками тварин I дослідної та контрольної групи, # – II дослідної та контрольної групи, & – I та II дослідних груп (один значок – з  $P < 0,05$ , два – з  $P < 0,01$ , три – з  $P < 0,001$ )

введення таурину підвищувало на 78,9 та 47,7 %  $V_1$  мітохондрій печінки тварин I та II дослідних груп порівняно з контролем (див. рис. 2, а). Під час окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату  $V_4^S$ ,  $V_3$ ,  $V_4^{ATP}$  у I дослідній групі зросли у 4–7 разів щодо контролю. Подібна тенденція (з менш вираженими змінами) виявлена у II дослідній групі, де інтенсивність споживання кисню була вищою на 57–126 %. ДК за Ларді у тварин I дослідної групи був на 24,0 % вищим, а у II дослідній групі – на 17,2 % нижчим (див. табл. 1). Якщо зростання ДК у I дослідній групі було пов'язано зі збільшенням  $V_3$ , то зниження у II дослідній групі – зі збільшенням  $V_4^S$ .

Активация сукцинатзалежного шляху окиснення у мітохондріях печінки тварин I дослідної групи спричинила аналогічні зміни, однак інтенсифікація дихання була менш вираженою. Споживання кисню мітохондріями печінки тварин II дослідної групи за цих умов було у межах похибки середнього арифметичного. У I дослідній групі ДК за Ларді зріс на 42,3 %, а за Чансом – на 82,6 % порівняно з контролем, через збільшення  $V_3$ . У мітохондріях II дослідної групи тварин ДК за Ларді виявився нижчим, ніж у тварин контрольної та I дослідної груп (див. табл. 1).

Отже, у печінці тварин I дослідної групи інтенсивність дихання зростала у всіх досліджуваних швидкостях за Чансом. Вищі ДК за Ларді та Чансом вказують на збільшену спряженість дихання і окисного фосфорилування у разі додавання сукцинату. Інтенсивність ендogenous дихання у II дослідній групі була вищою за контроль, але  $V_4^S$ ,  $V_3$  і  $V_4^{ATP}$  не відрізнялися від нього. ДК за Ларді у тваринах цієї групи знижувався порівняно з показниками контрольної групи під час додавання  $\alpha$ -кетоглутарату, що може вказувати на негативний вплив високих доз таурину на мітохондріальне дихання.

Подібно до тканини печінки  $V_1$  мітохондрій мозку тварин обох дослідних груп був вищим за контроль (рис. 2, б). У разі окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату не виявлено вірогідної різниці у  $V_4^S$ ,  $V_3$ ,  $V_4^{ATP}$ , а також між показниками дихання і окисного фосфорилування у тварин контрольної, I та II дослідних груп (див. табл. 1). Коли окиснювався екзогенний сукцинат,  $V_4^S$  мітохондрій мозку тварин I дослідної групи була на 31,8 % вищою, а у щурів II дослідної – нижчою на 38,9 %. Подібна залежність спостерігалась у  $V_3$ , та  $V_4^{ATP}$ . Однак незважаючи на підвищення швидкості споживання кисню мітохондріями

**Таблиця 1. Показники споживання кисню мітохондріями печінки щурів та окисного фосфорилування за окиснення екзогенних  $\alpha$ -кетоглутарату та сукцинату ( $M \pm m$ )**

Показники	Контроль (n = 3)	Дослідні групи	
		I (n = 5)	II (n = 3)
α-Кетоглутарат			
Дихальний контроль			
за Ларді ( $V_3/V_4^S$ )	2,05±0,14	2,54±0,23*	1,70±0,02 <sup>#&amp;</sup>
за Чансом ( $V_3/ V_4^{ATP}$ )	3,14±0,61	2,54±0,16	1,96±0,15 <sup>&amp;</sup>
АДФ/О, мкмоль АДФ/нмоль О <sub>2</sub>	3,38±0,30	2,90±0,50	3,29±0,27
Сукцинат			
Дихальний контроль			
за Ларді ( $V_3/V_4^S$ )	2,18±0,14	3,70±0,57*	1,79±0,08 <sup>&amp;</sup>
за Чансом ( $V_3/ V_4^{ATP}$ )	2,03±0,12	3,12±0,36*	2,00±0,12
АДФ/О, мкмоль АДФ/нмоль О <sub>2</sub>	2,35±0,53	2,14±0,50	2,49±0,51

Примітка: тут і в табл. 2–4 \* статистично вірогідна різниця між показниками тварин I дослідної та контрольної групи, # – II дослідної та контрольної групи, & – I та II дослідних груп (один значок – з  $P < 0,05$ , два – з  $P < 0,01$ , три – з  $P < 0,001$ )

мозку за цих умов, спряження між фосфорилуванням та окисненням субстратів і ДК за Ларді та Чансом у тварин І та ІІ дослідної групи лежали у межах похибки середнього арифметичного (табл. 2).

Отже, рівень ендogenousного дихання мітохондрій мозку у обох дослідних групах є вищим, ніж у контролі. При цьому введення таурину щурам обох дослідних груп не впливало на швидкість споживання кисню під час окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату у всіх досліджуваних станах за Чансом. Коли окиснювався сукцинат, швидкість дихання підвищувалась у тварин І дослідної групи, а у тварин ІІ дослідної групи знижувалася, проте ДК за Ларді та Чансом не змінювалися.

У сім'яниках дослідних груп у разі введення таурину спостерігалась інша закономірність. У тварин І дослідної групи  $V_1$  мітохондрій була нижчою на 48,3 % порівняно з контролем (рис. 3, а). За окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату  $V_4^S$  мітохондрій сім'яників у тварин І та ІІ дослідних груп вірогідно не відрізнялася від контрольних значень. У тварин ІІ дослідної групи  $V_3$  мітохондрій сім'яників була вищою на 29,2 %. Проте швидкість споживання кисню  $V_4^{ATP}$  виявилася на 30,6 % нижчою,

порівняно з контролем. ДК за Ларді та Чансом у сім'яниках ІІ дослідної групи були на 95,6 та 101,6 % вищими, оскільки зростало АДФ-стимульоване дихання (табл. 3).

Під час окиснення сукцинату  $V_4^S$  мітохондрій сім'яників тварин І дослідної групи збільшувалася на 50,1 %, а у тварин ІІ дослідної групи – на 67,9 % відносно контролю. У обох дослідних групах  $V_3$  вірогідно не відрізнялася від контролю. У тварин І дослідної групи  $V_4^{ATP}$  була вищою на 74,5 %, а у тварин ІІ дослідної групи – на 36,3 %. Порівняно з контрольними значеннями За таких умов у тварин І дослідної групи ДК за Ларді та Чансом виявилися нижчими на 30,6 та 46,2% (див. табл. 3).

Отже, тривале введення тваринам ІІ дослідної групи таурину збільшило швидкість  $V_3$  мітохондрій сім'яників, коли окиснювався екзогенний  $\alpha$ -кетоглутарат. При цьому зростали й ДК за Ларді та Чансом. Під час використання сукцинату як субстрату окиснення зростали  $V_4^S$  і  $V_4^{ATP}$  в обох дослідних групах, що у І дослідній групі спричиняло зниження ДК за Ларді та Чансом.

Подібно до сім'яників, тривале введення таурину тваринам І дослідної групи знижува-

Таблиця 2. Показники споживання кисню мітохондріями мозку щурів та окисного фосфорилування за окиснення екзогенних  $\alpha$ -кетоглутарату та сукцинату ( $M \pm m$ )

Показники	Контроль (n = 3)	Дослідні групи	
		I (n = 5)	II (n = 3)
α-Кетоглутарат			
Дихальний контроль			
за Ларді ( $V_3/V_4^S$ )	4,21±0,40	3,22±0,36	3,26±0,33
за Чансом ( $V_3/ V_4^{ATP}$ )	4,52±0,69	4,09±0,74	4,10±0,37
АДФ/О, мкмоль АДФ/нмоль О <sub>2</sub>	3,38±0,30	2,99±0,59	3,02±0,52
Сукцинат			
Дихальний контроль			
за Ларді ( $V_3/V_4^S$ )	2,69±0,10	3,32±0,47	3,18±0,58
за Чансом ( $V_3/ V_4^{ATP}$ )	4,20±0,10	4,10±0,12	4,10±0,25
АДФ/О, мкмоль АДФ/нмоль О <sub>2</sub>	2,35±0,53	2,34±0,39	2,07±0,30

Таблиця 3. Показники споживання кисню мітохондріями сім'яників шурів та окисного фосфорилування за окиснення екзогенних  $\alpha$ -кетоглутарату та сукцинату ( $M \pm m$ )

Показники	Контроль (n = 3)	Дослідні групи	
		I (n = 5)	II (n = 3)
α-Кетоглутарат			
Дихальний контроль			
за Ларді ( $V_3/V_4^S$ )	2,16±0,20	1,99±0,45	4,35±0,62 <sup>#&amp;</sup>
за Чансом ( $V_3/V_4^{ATP}$ )	3,00±0,21	2,26±0,36	5,87±0,72 <sup>#&amp;</sup>
АДФ/О, мкмоль АДФ/нмоль О <sub>2</sub>	3,38±0,30	3,05±0,87	3,27±0,30
Сукцинат			
Дихальний контроль			
за Ларді ( $V_3/V_4^S$ )	3,95±0,37	2,56±0,22*	3,69±0,88
за Чансом ( $V_3/V_4^{ATP}$ )	3,48±0,42	2,07±0,40*	3,85±0,75
АДФ/О, мкмоль АДФ/нмоль О <sub>2</sub>	2,35±0,53	2,13±0,25	2,13±0,31

ло інтенсивність  $V_1$  стегнового м'яза на 43,5% (рис. 3, б). Під час окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату  $V_4^S$ ,  $V_3$  та  $V_4^{ATP}$  у I дослідній групі були на 41,4–60,9 % нижчі за контроль. Водночас у тканині стегнового м'яза не було зафіксовано

різниці між інтенсивністю дихання мітохондрій сім'яників тварин II дослідної групи та ДК за Ларді та Чансом в обох дослідних групах (табл. 3).

Коли сукцинат окиснювався мітохонд-

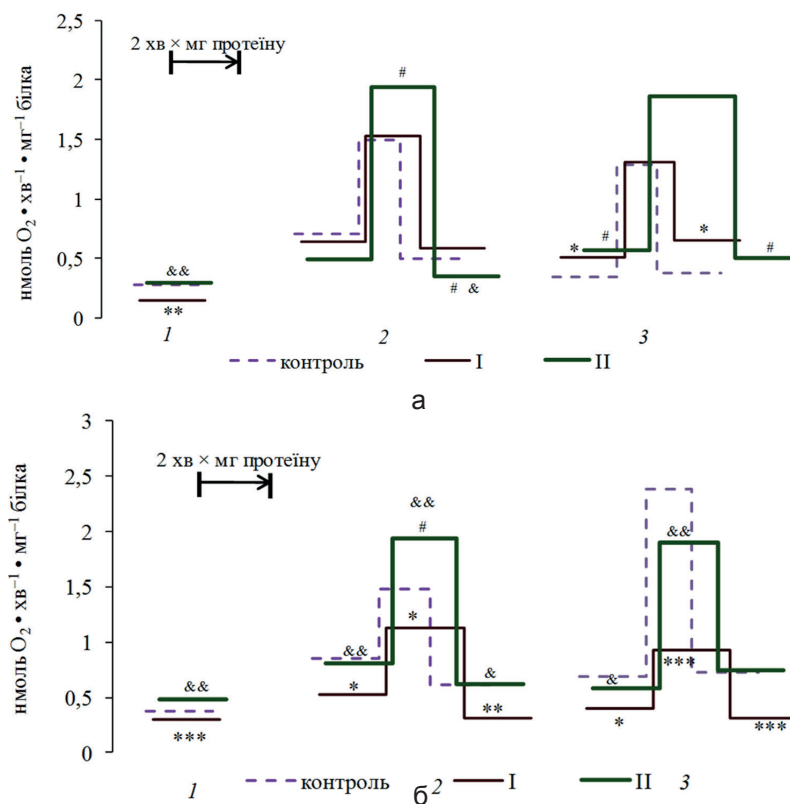


Рис. 3. Інтенсивність дихання мітохондрій: сім'яників (а) та стегнового м'яза (б) шурів за ендogenous дихання (1), окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату (2) і сукцинату (3); I – перша дослідна група, II – друга дослідна група, \* статистично вірогідна різниця між показниками тварин I дослідної та контрольної групи, # – II дослідної та контрольної групи, & – I та II дослідних груп (один значок – з  $P < 0,05$ , два – з  $P < 0,01$ , три – з  $P < 0,001$ )



ріями стегнового м'яза I дослідної групи спостерігалася подібна залежність. Найістотніше знижувалась  $V_3$  – на 23,7 %. У м'язах II дослідної групи  $V_4^S$ ,  $V_3$  та  $V_4^{ATP}$  були на рівні контролю. У обох дослідних групах вірогідно не змінились ДК за Ларді та Чансом (табл. 4).

Таким чином, під час окиснення як екзогенного  $\alpha$ -кетоглутарату, так і сукцинату інтенсивність дихання мітохондрій стегнового м'яза у тварин I дослідної групи знижувалась. У тварин II дослідної групи за додавання  $\alpha$ -кетоглутарату  $V_3$  зростала, незважаючи на це ДК за Ларді та Чансом не відрізнялися від контролю.

Тривале пероральне введення таурину тваринам спричиняє різні зміни мітохондріального дихання у різних тканинах і залежить від типу окисного метаболізму. Відомо, що за випоювання щурам таурину в їхній крові знижується концентрація глюкози та підвищується активність лактатдегідрогенази [17]. Такі зміни, як і зареєстроване нами збільшене  $V_1$  у тканині печінки (див. рис. 2, а) та мозку (див. рис. 2, б) обох дослідних груп тварин, вказують на підвищений рівень метаболізму в організмі.

Для полегшення аналізу змін мітохондріального дихання за окиснення екзогенних субстратів отримані результати представлено у вигляді нормалізованих величин на рис. 4. Найбільші зміни показників дихання мітохондрій за перорального введення таурину зареєстровані у печінці тварин I дослідної

групи, де інтенсивність споживання кисню зросла більше ніж у 6 разів (див. рис. 4, а).

Ймовірно, що такий результат є впливом декількох чинників. Зокрема таурин спричинює збільшення вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  у мітохондріях [6]. Оскільки  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназа є  $\text{Ca}^{2+}$ -залежним ферментом [11], то зростання вмісту іонів призведе до інтенсифікації окиснення  $\alpha$ -кетоглутарату, що спостерігається у мітохондріях печінки тварин II дослідної групи. Однак це не пояснює збільшення споживання кисню у разі додавання сукцинату у I дослідній групі. Зміни у диханні мітохондрій печінки можуть бути результатом інтенсифікації синтезу білків дихального ланцюга. Існують дані, які підтверджують входження таурину до складу мтРНК [9]. Більше того, у дослідженнях на культурах клітин виявлено, що надлишок таурину в середовищі спричиняє інтенсифікацію синтезу компонентів електронно-транспортного ланцюга та призводить до посилення синтезу АТФ і збільшення мембранного потенціалу мітохондрій [9].

Дещо інша картина спостерігається у мозку (див. рис 4, б). Введення таурину не впливає на НАД-залежне дихання. А у разі окиснення сукцинату  $V_4^S$ ,  $V_3$ ,  $V_4^{ATP}$  мітохондрій мозку I дослідної групи зростають. Це може бути наслідком збільшеної потреби мозку у швидкому синтезі АТФ. Результати позитивного впливу таурину підтверджують

**Таблиця 4. Показники споживання кисню мітохондріями стегнового м'яза щурів та окисного фосфорилування за окиснення екзогенних  $\alpha$ -кетоглутарату та сукцинату ( $M \pm m$ )**

Показники	Контроль (n = 3)	Дослідні групи	
		I (n = 5)	II (n = 3)
α-Кетоглутарат			
Дихальний контроль			
за Ларді ( $V_3/V_4^S$ )	1,74±0,07	2,16±0,15	2,51±0,34
за Чансом ( $V_3/V_4^{ATP}$ )	2,43±0,16	3,74±0,43	3,20±0,40
АДФ/О, мкмоль АДФ/нмоль О <sub>2</sub>	3,38±0,30	3,29±0,39	3,15±0,34
Сукцинат			
Дихальний контроль			
за Ларді ( $V_3/V_4^S$ )	3,31±0,38	2,40±0,38	3,31±0,57
за Чансом ( $V_3/V_4^{ATP}$ )	3,48±0,26	3,00±0,25	2,60±0,23
АДФ/О, мкмоль АДФ/нмоль О <sub>2</sub>	2,35±0,53	2,46±0,52	2,44±0,55

досліди, проведені на нейронах. За їхньої інкубації у середовищі з таурином підвищується мітохондріальна ємність  $\text{Ca}^{2+}$ , мембранний потенціал мітохондрій і синтез АТФ [2]. Але як свідчать наші результати досліджень,  $V_4^S$  та  $V_3$  у мітохондріях мозку II дослідної групи знижуються (див. рис. 4, б). Це може бути зумовлено розвитком гіпоксії, оскільки для сукцинатзалежного шляху окиснення необхідно більше кисню і він чутливий до його нестачі [11]. Розвиток гіпоксії передбачає збільшення активності  $\text{O}_2$ -незалежного шляху утилізації глюкози і утворення лактату з подальшим транспортуванням у печінку. Протилежні за напрямом процеси розвиваються у сім'яниках та стегновому м'язі. Зниження  $V_1$  мітохондрій сім'яників тварин I дослідної групи (див. рис. 2, а) та всіх інших швидкостей дихання

у м'язах (див. рис. 4, г) може бути результатом збільшення активності  $\text{O}_2$ -незалежного шляху утилізації глюкози. Внаслідок інтенсифікації цього шляху підвищується продукція лактату, тому активність лактатдегідрогенази має теж зростати – для перетворення лактату і пірувату. Лактат транспортується у печінку, перетворюється на піруват, який надходить у цикл Кребса [11]. Це частково пояснює можливу причину інтенсифікації мітохондріального дихання у печінці.

З іншого боку, таурин є амінокислотою, що опосередковано підвищує активність ензиматичної ланки антиоксидантного захисту [1]. Збільшення активності ферментів антиоксидантного захисту може бути результатом посилення процесів перекисного окиснення ліпідів. За таких умов мембрана мітохондрій ймовірно

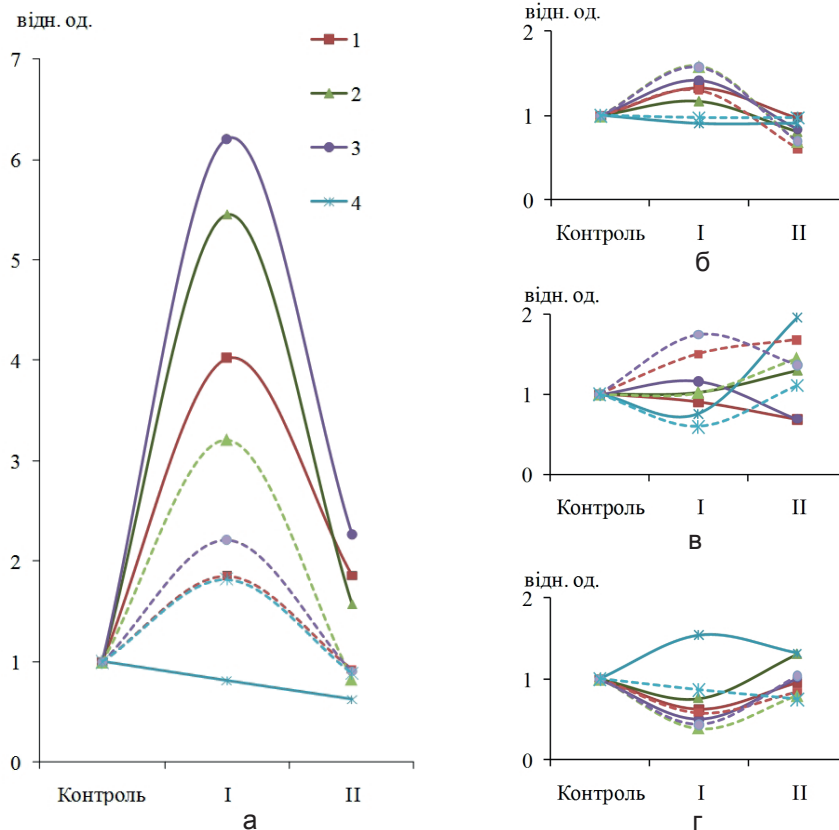


Рис 4. Нормалізовані щодо контролю показники дихання мітохондрій за Чансом у разі окиснення:  $\alpha$ -кетоглутарату (неперервна лінія) та сукцинату (пунктирна лінія): за одиницю приймали відповідні показники у контролі; а – печінка, б – мозок, в – сім'яники, г – стегновий м'яз; 1 – швидкість дихання  $V_4^S$ , 2 –  $V_3$ , 3 –  $V_4^{ATP}$ , 4 – дихальний контроль за Чансом (за Ларді не представлено)



пошкоджується і інтенсивність дихання знижується. Надмірна активація ензимів анти-оксидантного захисту призводить до зниження інтенсивності мітохондріального дихання.

У сім'яниках тварин I дослідної групи знижуються ДК під час окиснення сукцинату. Це збігається з дослідом на мітохондріях печінки, де таурин частково знижує спряження дихання з окисним фосфорилуванням (див. рис. 4, в). У тварин II дослідної групи ДК за стимуляції  $\alpha$ -кетоглутаратом зростають у 2–2,5 рази порівняно з контролем. Такі результати вказують на участь таурину у перебудові мембрани. Адже він може сприяти ацилюванню ненасичених жирних кислот, захищаючи їх від вільних радикалів кисню [1]. Збільшується й  $V_3$ , що свідчить про збільшену потребу у АТФ, яка може використовуватись на синтетичні процеси, наприклад сперміогенез [5].

Отже, пероральне введення таурину призводить до зростання інтенсивності дихання у тканині печінки обох дослідних груп тварин, мозку I дослідної групи та сім'яників II дослідної групи. При цьому пригнічення інтенсивності дихання у м'язах та ДК у сім'яниках I дослідної групи вказує на зниження утворення АТФ цими тканинами. Тому вплив тривалого введення таурину на інтенсивність дихання мітохондрій та окисне фосфорилування залежить від дози та типу тканини, і, вочевидь, реалізується різними механізмами. Зокрема ці зміни можуть бути спричинені зсувом рівноваги між киснезалежним і кисненезалежним метаболізмом, зростанням мембранного потенціалу мітохондрій, зміною  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу чи збільшенням кількості мітохондріальних білків.

**Р.Д. Остапів<sup>1,2</sup>, В.В. Манько<sup>1</sup>**

### **ИНТЕНСИВНОСТЬ ДЫХАНИЯ МИТОХОНДРИЙ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ТАУРИНА**

Исследовали влияние длительного введения таурина на интенсивность дыхания митохондрий в тканях печени, головного мозга, семенников и бедренной мышцы крыс.

Для этого самцов крыс линии Вистар массой 190–220 г разделили на три исследовательские группы, которым ежедневно в течение 28 сут вводили питьевую воду (контрольная группа) или раствор таурина в расчете 40 или 100 мг / кг (I и II экспериментальные группы соответственно). Интенсивность дыхания определяли полярографически с использованием электрода Кларка при окислении эндогенных субстратов ( $V_1$ ), добавлении экзогенных  $\alpha$ -кетоглутарата (5 ммоль/л) или сукцината (1 ммоль/л,  $V_4^S$ ), АДФ до конечной концентрации 200 мкмоль/л ( $V_3$ ) и после использования АДФ ( $V_4^{ATP}$ ). Выяснилось, что длительное введение таурина приводило к повышению на 50–60%  $V_1$  митохондрий у животных обеих экспериментальных групп в печени и мозгу, но она снизилась на 73–48% в семенниках и мышцах животных I экспериментальной группы. В печени животных этой группы как при окислении  $\alpha$ -кетоглутарата, так и сукцината  $V_4^S$ ,  $V_3$ , и  $V_4^{ATP}$  были в 4–7 раз выше контроля. При окислении  $\alpha$ -кетоглутарата в печени животных II экспериментальной группы  $V_4^S$ ,  $V_3$ , и  $V_4^{ATP}$  были на 57–126 % выше. В мышцах крыс I экспериментальной группы  $V_4^S$ ,  $V_3$ , и  $V_4^{ATP}$  при добавлении  $\alpha$ -кетоглутарата и сукцината были ниже на 41,4–60,9 % относительно контроля. В мышцах животных II экспериментальной группы при добавлении  $\alpha$ -кетоглутарата  $V_3$  была выше на 23,7 % контроля. При добавлении сукцината  $V_4^S$  и  $V_4^{ATP}$  возросли на 31–70 % в семенниках животных обеих групп и в мозгу крыс I экспериментальной группы. Однако в мозгу животных II экспериментальной группы  $V_4^S$  была ниже на 38,3 %. Таким образом, установлено дозозависимое и тканеспецифическое влияние длительного введения таурина на интенсивность потребления кислорода митохондриями. Ключевые слова: таурин; интенсивность дыхания митохондрий; печень; головной мозг; семенники; бедренная мышца.

**R.D. Ostapiv<sup>1,2</sup>, V.V. Manko<sup>1</sup>**

### **MITOCHONDRIA RESPIRATION AND OXIDATIVE PHOSPHORYLATION OF RAT TISSUES AT TAURINE PER ORAL INJECTION**

Taurine – sulphur-containing amino acid is a necessary component of mitochondrial matrix, where it maintains pH and is included in mitochondrial transport RNA. But still it is unclear how taurine influences on ATP synthesis and mitochondrial respiration chain components activity. Thus, the aim of the work was to study the effect of long-term per oral taurine injection on mitochondrial respiration intensity in rat tissues: liver, brain, testes and thigh muscle. For this purpose male Wistar rats, that weighted 190–220 g, were divided in three groups, daily during 28 days they were injected drinking water (control group) or taurine solution 40 and 100 mg per kg of body weight (I and II research groups, correspondingly). Respiration intensity was measured polarographically with use of Clark electrode at endogenic substrates oxidation ( $V_1$ ), with exogenic

$\alpha$ -ketoglutarate (5 mmol/l) or succinate (1 mmol/l;  $V_4^S$ ) addition, at ADP addition to concentration 200  $\mu$ mol/l ( $V_3$ ), and after ADP depletion ( $V_4^{ATP}$ ). Phosphorylation time, oxidative phosphorylation efficacy (ADP/O), respiratory controls by Lardy ( $V_3/V_4^S$ ) and Chance ( $V_3/V_4^{ATP}$ ) were calculated. It was found that long term taurine injection increased  $V_1$  in animal brain and liver of both research groups, but it decreased in testes and muscles of I research group. In liver of I research group animals, when both  $\alpha$ -ketoglutarate and succinate were oxidated,  $V_4^S$ ,  $V_3$  and  $V_4^{ATP}$  were 4–7 times larger than in control. At the same time, Lardy respiratory control increased at succinate oxidation, this may indirectly point on increased coupling between respiration and oxidative phosphorylation. In liver of II research group animals  $V_4^S$ ,  $V_3$  and  $V_4^{ATP}$  when  $\alpha$ -ketoglutarate was oxidated were significantly higher than in control. In muscles of I research group  $V_4^S$ ,  $V_3$  and  $V_4^{ATP}$  when  $\alpha$ -ketoglutarate and succinate was added were lower than in control. In thigh muscle of II research group animals at  $\alpha$ -ketoglutarate oxidation  $V_3$  was higher than in control. When succinate was added  $V_4^S$  and  $V_4^{ATP}$  increased in testes mitochondria of both research groups and in brain of I research group. But in II research group animals mitochondria  $V_4^S$  brain was lower than in control. At the same time, coupling between respiration and oxidative phosphorylation in brain was on control level, in testes of I research group it was lower. In testes of II research group animals at  $\alpha$ -ketoglutarate addition increased respiratory controls. Thus, the effect of long term per oral taurine injection on mitochondria respiration intensity is dose-dependent and tissue-specific and, obviously, has different significance and is implemented by different mechanisms.

Key words: taurine; mitochondrial respiration intensity; liver; brain; testes; thigh muscle.

<sup>1</sup>Ivan Franko National University of Lviv;

<sup>2</sup>State Scientific Controlling Institute of Veterinary Medical Products and Feed Additives, Lviv

## REFERENCES

1. Lambert IH, Kristensen DM, Holm JB. Physiological role of taurine – from organism to organelle. *Acta Physiol.* 2015;213:191–212.
2. Hansen S, Birkedal H, Wibrand F. Taurine and regulation of mitochondrial metabolism. *Adv Exp Med Biol.* 2015;883(1):397–405.
3. Palmi M, Youmbia GT, Fusia F. et al. Potentiation of mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  sequestration by taurine. *Biochem Pharm.* 1999;58:1123–31.
4. Ozasa H, Gould KG. Protective effect of taurine from osmotic stress on chimpanzee spermatozoa. *Arch Androl.* 1982;9:121–6.
5. Xu S, He M, Zhong M, Wang S. et al. The neuroprotective effects of taurine against nickel by reducing oxidative stress and maintaining mitochondrial function in cortical neurons. *Neu Let.* 2015;590:52–57.
6. Chou Ch, Lin H, Hwang L. Taurine resumed neuronal differentiation in arsenite-treated N2a cells through reducing oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial dysfunction. *Amino Acids.* 2015;47(4):735–44.
7. Jang J, Zong X, Wu G, Lin S. et al. Taurine increases testicular function in aged rats by inhibiting oxidative stress and apoptosis. *Amino Acids.* 2015;47(8):1549–1558.
8. Zhang X, Shuo T, Wang Y, Xu B. Mechanism of taurine-induced apoptosis in human colon cancer cells. *Acta Biochim Biophys Sin.* 2014;46:261–272.
9. Mu W, Zhang T, Jiang B. An overview of biological production of L-theanine. *Biotech Adv.* 2015;33:335–42.
10. Scholz TD, Balaban RS. Mitochondrial  $\text{F}_1\text{-ATPase}$  activity of canine myocardium: effects of hypoxia and stimulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1994; 266:396 – 403.
11. Kondrashova MN. Transeaminase cycle of substrate oxidation, as a mechanism to hypoxia adaptation. *Pharmacol Corr Hypox Stag.* 1987;1:51–70. [Russian].
12. Della-Morte D, Kunjan RD, DeFazio AR. et al. Resveratrol pretreatment protects rat brain from cerebral ischemic damage via a SIRT1 – UCP2 pathway. *Neuroscience.* 2009;159(3): 993–1002.
13. Chance B, Williams G. Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. *J. Biol. Chem.* 1955; 216: 383–393.
14. Lowry OH, Rosebrough NJ, Fair AL. et al. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193:265–75.
15. Derkach MP, Gumenitskiy RY, Chaban MY. Variation statistics course. Kyiv: High school, 1977. [Ukrainian].
16. Schaffer SW, Azuma J, Mozaffar M. Role of antioxidant activity of taurine in diabetes. *Can J Phys Pharm.* 2009; 87: 91–99.
17. Ribeiro RA, Bonfleur M L, Amaral AG. Taurine supplementation enhances nutrient-induced insulin secretion in pancreatic mice islets. *Diabetes Metab Res Rev.* 2009;25:370–9.

Матеріал надійшов до  
редакції 05.05.2015