

Мітохондріальна дисфункція та оксидативні порушення у мозку щурів при моделюванні паркінсоноподібного синдрому: коригувальна дія капікору

І.М.Маньковська¹, О.О.Гончар¹, В.І.Носар¹, К.В.Розова¹, Л.В.Братусь¹,
Є.Е.Колеснікова¹, Ю.В.Путій¹, 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 біофізичні, біохімічні, патоморфологічні характеристики розвитку мітохондріальної дисфункції та оксидативного стресу в головному мозку щурів при ротеноніндукованому паркінсоноподібному синдромі, а також вплив на ці процеси препарату капікор (мельдонійдигідрат у комбінації з γ -бутиробетайндигідратом). Показано, що паркінсоноподібний синдром пов'язаний з деструктивними ураженнями структури мітохондрій та пертурбаціями мітохондріальної динаміки в стріатумі, вираженими порушеннями про- та антиоксидантної рівноваги у мітохондріях мозку, а також пригніченням НАДН-оксидазного шляху окиснення та зниженням продукції АТФ у мітохондріях. Під дією капікору у мозку щурів з паркінсонічним синдромом відбувалися позитивні зміни у морфофункціональному стані мітохондрій з активацією їх біогенезу (зростання кількості на 20,5%), зі зменшенням (на 19,3%) структурно пошкоджених органел. Це супроводжувалося послабленням інтенсивності оксидативних процесів зі зниженням вмісту вторинних продуктів ПОЛ (на 15%), відновленням глутатіонового пулу, підвищенням антиперекисного захисту мітохондрій (зростання активності глутатіонпероксидази на 62%). Капікор сприяв підвищенню швидкості АДФ-стимульованого дихання, спряження дихання з фосфорилуванням, енергетичної ефективності синтезу АТФ у мітохондріях.

Ключові слова: паркінсоноподібний синдром; мітохондріальна дисфункція; оксидативний стрес; капікор.

ВСТУП

Хвороба Паркінсона (ХП) є прогресуючим нейродегенеративним захворюванням, що клінічно характеризується наявністю симптомокомплексу „TRAP” (тремор, ригідність, акінезія, постуральна нестабільність) [1]. Провідні патологічні ознаки, типові для початку та прогресування цієї хвороби, це селективна втрата допамінергічних нейронів у компактній частині чорної субстанції головного мозку (SNpc) та наявність α -синуклеїнівмісних включень (так звані тільця Леві) в нейронах мозку [2]. Наразі встановлено, що мітохондріальна дисфункція та оксидативний стрес є центральними ланками патогенезу ХП [3, 4]. Першим свідченням, яке пов'язувало міто-

хондріальну дисфункцію з патогенезом ХП, було встановлення селективного інгібування мітохондріального комплексу I з одночасним розвитком паркінсонізму у людини після випадкового застосування 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину (MPTP) [5]. Інші токсичні інгібітори цього компонента електронно-транспортного ланцюга мітохондрій (ротенон, піридабен, трихлоретилен, фенпроксилат та ін.) також індукують дегенерацію допамінергічних нейронів нігостріатної системи та відтворюють в експерименті основні клінічні, нейрохімічні, патоморфологічні та молекулярні характеристики ХП [4]. Було показано, що мітохондріальна дисфункція, яка супроводжується зростанням продукції активних форм кисню (АФК)

© І.М.Маньковська, О.О.Гончар, В.І.Носар, К.В.Розова, Л.В.Братусь, Є.Е.Колеснікова, Ю.В.Путій, І.М.Карабань

у мітохондріях, призводить до дегенерації допамінергічних нейронів у SNpc [3]. Зростання вмісту та активності відомих маркерів оксидативного стресу було відмічено у мозку при найбільш розповсюджених нейродегенеративних хворобах людини, включаючи ХП [6]. Відомо, що мозок найбільш чутливий до оксидативних порушень, завдяки високій швидкості споживання кисню, підвищеному вмісту поліненасичених жирних кислот і редоксдатних транзитних іонів металів, а також відносно низькому вмісту антиоксидантів [7]. Дійсно, наші попередні дослідження показали, що тривале введення ротенону викликало найбільш виражені морфологічні прояви мітохондріальної дисфункції, а відтак й оксидативного стресу у головному мозку щурів [8]. Його застосування призводило також до розвитку у мітохондріях мозку тварин характерних для ХП ознак: надмірної генерації супероксиданіона (за рахунок блокади комплексу I дихального ланцюга мітохондрій мозку), зниження мембранного потенціалу та синтезу АТФ, порушення прота антиоксидантного гомеостазу. Всі ці явища є ознаками мітохондріальної дисфункції, що супроводжує та посилює нейродегенеративні розлади, які притаманні ХП [9].

Таким чином, фармакологічні агенти із цільовим впливом на мітохондріальну дисфункцію та оксидативний стрес у головному мозку є першочерговими претендентами на нейропротективну терапію при ХП. У цьому аспекті ми застосували препарат капікор при моделюванні паркінсоноподібного синдрому за допомогою ротенону у щурів. Цей препарат („Олайнфарм”, Латвія) являє собою дуплекс, який складається з мельдоніюдигідрату та γ -бутиробетаїнудигідрату. Він ліцензований в Україні та Росії як антиоксидант і був використаний в пілотних випробуваннях для тестування його терапевтичної ефективності при ХП [10].

Метою нашої роботи було дослідження впливу капікору на зміни дихання і фосфорилування, про- та антиоксидантного балансу,

а також морфологічного стану мітохондрій головного мозку при моделюванні паркінсоноподібного синдрому за допомогою ротенону у щурів.

МЕТОДИКА

Експерименти проведено на 30 щурах-самцях Вістар масою 230-250г, які вживали стандартний корм. Моделювання паркінсоноподібного стану відтворювали за загальноприйнятим методом – введення ротенону підшкірно впродовж 2 тиж [11]. Тварин розподілили на 5 груп по 6 тварин у кожній: 1-ша - інтактні (контроль); 2-га - тварини, яким 14 днів щоденно підшкірно вводили ротенон у дозі 3мг/кг маси тіла (як розчинник використовували суміш ДМСО та поліетиленгліколю 1:1); 3-тя - тварини, яким після відтворення ротенової інтоксикації ще додатково наступні 2 тиж внутрішньоочеревинно вводили водний розчин препарату капікор у дозі 50 мг/кг; 4-та і 5-та – тваринам цих груп вводили розчинник ротенону та фізіологічний розчин відповідно у тих самих об’ємах, що і тваринам 2-ї та 3-ї груп. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом відразу після експерименту. Утримували їх та маніпуляції з ними здійснювали відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментах та з іншою науковою метою (Страсбург, 1986).

Для вивчення окисного фосфорилування у мітохондріях головного мозку застосовували таку схему (всі маніпуляції виконувалися при 4⁰ С). Після декапітації щурів мозок швидко виділяли та промивали охолодженим розчином 0,9%-й КСl, подрібнювали та гомогенізували у 5-кратному об’ємі середовища (250 ммоль/л сахарози, 20 ммоль/л тріс-НСl-буфера, 1 ммоль/л ЕДТА, 1мг/мл БСА; рН 7,4). Для виділення мітохондрій гомогенат центрифугували 7 хв при 1000 g. Потім супернатант центрифугували 15 хв при 12 000 g. Осад суспендували в невеликому об’ємі середовища без додавання ЕДТА і БСА та

зберігали на льоду. Вміст білка визначали за методом Лоурі. Процеси дихання та окисного фосфорилування в мітохондріях вивчали за стандартних умов за допомогою полярографічного методу з використанням закритого електрода Кларка та оксиграфа (Standart Оху-graph System, «Hansatech», Велика Британія). Функціональний стан мітохондрій вивчали за методом Chance, Williams [12], використовуючи середовище інкубації (300 ммоль/л сахарози, 2 ммоль/л HCl-буфера, 1 ммоль/л NaH_2PO_4 ; pH 7,4). Реєстрували стаціонарну швидкість дихання у стані 4 (V_4^s) за умов окиснення субстрату (5 ммоль/л сукцинату чи 10 ммоль/л глутамату +2,5 ммоль/л малату) за відсутністю АДФ; швидкість активного дихання при додаванні 300 мкмоль/л АДФ (V_3); швидкість контрольованого дихання ($V_4^{\text{АДФ}}$), коли в системі відбувається вичерпання доданого акцептора фосфора - АДФ; дихальний контроль ($V_3 / V_4^{\text{АДФ}}$), що є показником ефективності регуляції дихання мітохондрій та коефіцієнт ефективності фосфорилування (АДФ/О), який відображає кількісний зв'язок між споживанням O_2 і синтезом АТФ [13].

У суспензії мітохондрій досліджували також вміст активних продуктів 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП) [14], вміст відновленого (GSH) глутатіону [15], активність глутатіонзалежних ферментів: глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази [16], активність антирадикального ферменту: Мп-супероксиддисмутази (Мп-СОД) [17].

Препарати для електронно-мікроскопічних досліджень готували за загальноприйнятою методикою з подвійною фіксацією глютаральдегідом і OsO_4 , зневоднюванням спиртами зростаючої концентрації та наступною заливкою в Epon-Araldite („Fluka”, Швейцарія) [18]. Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм піддавали подвійному контрастуванню за допомогою розчину уранілацетату та цитрату свинцю („Sigma”, США), досліджували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-124С (Україна). Морфометричну оцінку виконували із застосуванням комп'ютерної

програми „Image Tool” (США) на 130-150 полях для кожної групи тварин.

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою програми «Microsoft Excel 2003» із застосуванням критерію t Стьюдента. Їх представлено як середнє значення \pm похибка середнього ($M \pm m$), оскільки завдяки значному масиву отриманого цифрового матеріалу, а також відповідно до критерію Шапіро-Уїлка, отримані результати відповідали нормальному закону розподілу [19]. Різницю між середніми величинами вважали статистично значущою при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Починаючи з 4-ї доби підшкірного введення ротенону, у щурів відмічався розвиток паркінсоноподібної симптоматики. Найбільш ранніми клінічними проявами були гіпокінезія, слинотеча, ригідність м'язів, втрата маси тіла. Подальше прогресування включало напади каталепсії, птоз, наростаючу ригідність м'язів тулуба та кінцівок, характерний „горбатий силует”, явища постуральної нестабільності, трофічні виразки шкіри. Як було показано раніше, вираженість цих симптомів у щурів корелювала як з результатами спеціальних тестів (з оцінкою гіпо- та акінезії, постуральних порушень, асиметрії симптоматики та ураження різних кінцівок поодиночі), так і зі ступенем дегенерації допамінергічних нейронів у нігрозстріатних шляхах [11]. Всі результати, отримані у тварин 4-ї та 5-ї груп, не відрізнялися достовірно від значень у щурів 1-ї та 3-ї груп, тому вони не були включені до таблиць і рисунків для запобігання перевантаження тексту.

Результати дослідження окисного фосфорилування в мітохондріях головного мозку за окиснення різних субстратів представлені в таблиці.

Було показано, що у тварин після введення ротенону за умов окиснення як сукцинату (ФАД-залежного субстрату), так і глутамату

Вплив капікору на показники дихання і фосфорилювання (нмоль O_2 ·хв $^{-1}$ ·мг $^{-1}$ білка) в мітохондріях мозку щурів за окислення різних субстратів при моделюванні паркінсоноподібного синдрому (М±m; n=6)

Схема досліджу	5 ммоль/л сукцинату					10 ммоль/л глутамату і 2,5 ммоль/л малату				
	V ^s ₄	V ₃	V ^{ATФ} ₄	V ₃ /V ^{ATФ} ₄	АДФ/О	V ^s ₄	V ₃	V ^{ATФ} ₄	V ₃ /V ^{ATФ} ₄	АДФ/О
Контроль	14,0± 1,08	52,1± 2,49	18,5± 1,57	2,82± 0,10	1,79± 0,07	14,8± 1,33	49,3± 3,15	15,2± 1,25	3,25± 0,18	2,63± 0,09
Ротенон	18,6± 1,59*	45,4± 1,90*	21,0± 1,71	2,16± 0,11*	1,68± 0,07	14,3± 1,56	30,1± 3,58*	14,5± 1,17	2,08± 0,30*	1,95± 0,17*
Ротенон і капікор	15,9± 2,19	49,7± 2,36	19,6± 1,50	2,53± 0,07*	1,72± 0,11	12,5± 4,48	35,6± 4,0*	14,4± 2,23	2,48± 0,11*	2,13± 0,09*

*P<0,05 щодо контролю

з малатом (НАД-залежних субстратів) у мітохондріях, виділених з тканини мозку, сповільнювалося АДФ-стимульоване дихання, зменшувалося спряження дихання з фосфорилюванням на тлі зменшення ефективності споживання кисню. Зазначені зміни були більш вираженими при використанні НАД-залежних субстратів: так, V₃ зменшувалася на 39% (P<0,05), дихальний контроль – на 36% (P<0,05), АДФ/О – на 26% (P<0,05) порівняно з контрольними значеннями. Після введення капікору V^s₄, V₃ та АДФ/О поверталися до рівня контрольних значень (див. таблицю). За умов окиснення НАД-залежних субстратів дія капікору супроводжувалася однонаправленими, але менш значними змінами показників окисного фосфорилювання в мітохондріях порівняно з такими при окисненні ФАД-залежного субстрату.

Тривале введення ротенону призводило до інтенсифікації процесів ПОД у мітохондріях мозку щурів, про що свідчить зростання вмісту ТБК-АП на 54% (P<0,05) порівняно з контрольною групою (рис. 1, а). За цих умов ми реєстрували зниження антиоксидантного потенціалу мітохондрій мозку щурів. Так, активність Mn-SOD, яка є ферментом першої лінії захисту, знижувалася на 42% (P<0,05; рис.2). Інактивація цього антирадикального ферменту, як відомо, може викликати надмірну акумуляцію супероксид-аніона, який призводить до утворення інших більш реактивних форм кисню і може стати тригером клітинної деструкції.

Про нейротоксичність дії ротенону свідчить зниження концентрації GSH в 3,8 раза (P<0,05), блокування активності глутатіонзалежних ферментів (див. рис.1, б). Виявлене зниження глутатіонпероксидазної (на 74%; P<0,05) та глутатіонредуктазної (на 55%; P<0,05; див. рис. 2) активності у тварин 2-ї групи на відміну від контролю, є факторами, які впливають на стан глутатіонового редокс-циклу і, як наслідок, клітинної сигналізації загалом [20]. За цих умов не слід виключати вплив на активність глутатіонпероксидази

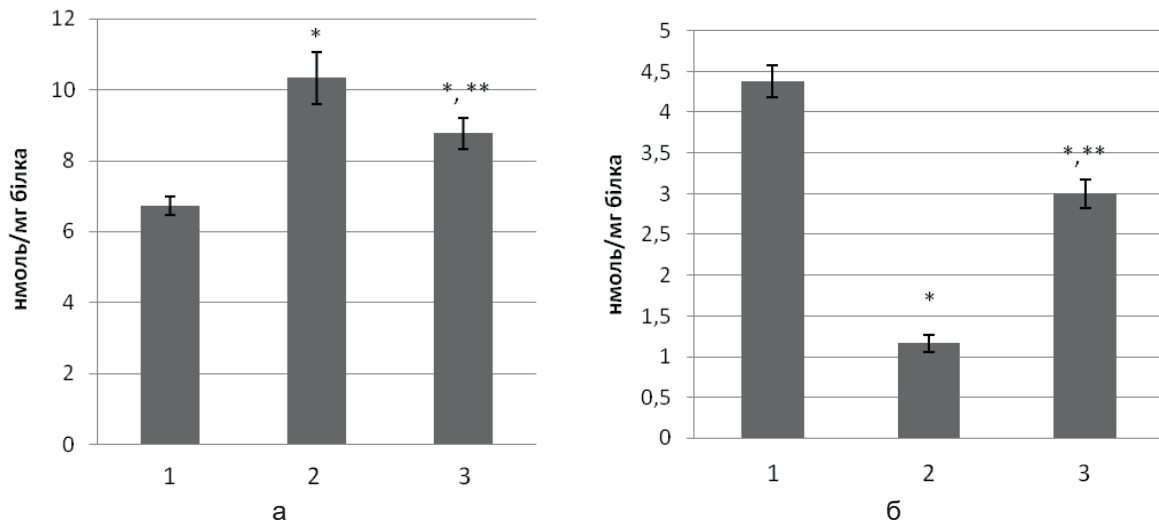


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів (а) та відновленого глутатіону (б) у мітохондріях мозку щурів за умов застосування ротенону (2) та введення капікору (3). * P<0,05 відносно контролю; ** P<0,05 відносно застосування ротенону

поступового вичерпання пулу GSH (який є кофактором цього ферменту) в антирадикальних реакціях, а також підвищену чутливість до $O_2^{\cdot-}$, який здатний бути інгібітором глутатіонпероксидази [21]. У свою чергу накопичення окисненого глутатіону в умовах порушення активності глутатіонредуктази може призвести до дисбалансу антиоксидантної системи, оскільки окиснений глутатіон є токсичною сполукою і здатний

утворювати змішані дисульфіди з тіолутримуючими ферментами, що порушує їх активність. Отримані результати свідчать, що за умов ротеноніндукованого паркінсонізму відбувається зсув про- та антиоксидантного гомеостазу у бік посилення оксидативних процесів з пригніченням захисних ланок. Усе це збігається з відомостями, що для хворих на ХП разом з посиленням оксидативного стресу, характерне різке зниження вмісту

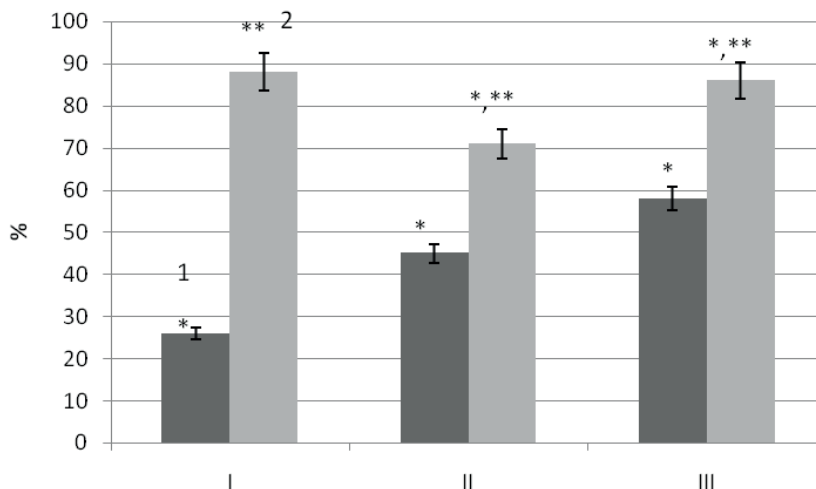


Рис.2. Активність ферментів глутатіонпероксидази (I), глутатіонредуктази (II) та Mn-супероксиддисмутази (III) у мітохондріях мозку щурів за умов застосування ротенону та введення капікору. Активність ферментів у тварин контрольної групи прийнята за 100%.

* P<0,05 відносно контролю; **P<0,05 відносно застосування ротенону

GSH та активності глутатіонзалежних ферментів у крові [22]. Застосування капікору мало позитивний вплив на про- та антиоксидантний баланс у мітохондріях мозку щурів. У тварин 3-ї групи вміст вторинних продуктів ПОЛ знизився на 15% ($P < 0,05$; див. рис. 1, а), зростала активність Мп-СОД на 28% ($P < 0,05$) порівняно з аналогічними показниками у тварин 2-ї групи, що свідчить про послаблення інтенсивності оксидативних процесів (див. рис. 2). Про підвищення антиперекисного захисту мітохондрій за умов використання капікору при ротеноніндукованому паркінсоноподібному синдромі говорить зростання активності глутатіонпероксидази у мозку щурів на 62 % ($P < 0,05$; див. рис. 2). Поступово відновлювався глутатіоновий пул мітохондрій мозку щурів (вміст GSH зростав в 2,6 раза, $P < 0,05$) на відміну від такого у тварин 2-ї групи, цьому сприяло зростання активності глутатіонредуктази (на 26%, $P < 0,05$; див. рис. 1, б; 2), оскільки відомо, що поповнення внутрішньоклітинного пулу GSH залежить також і від швидкості відновлення утворюваного окисненого глутатіону, яке здійснюється у глутатіонредуктазних реакціях [20, 21].

Таким чином, застосування капікору призводить до зниження пошкодження мітохондрій мозку щурів при ротеноніндукованому паркінсоноподібному синдромі,

про що свідчить посилення ендogenous антиоксидантного захисту на тлі послаблення оксидативних процесів.

Ультраструктурний і морфометричний аналіз тканини стріатуму показав, що загальна кількість мітохондрій після тривалого введення ротенону не відрізнялась від контрольних значень, у них спостерігалось явище «роз'єднання-злиття» (“fission-fusion”) органел, а також фрагментація (рис. 3, а, б).

При ХП у нейронах зазвичай пригнічується процес мітохондріального роз'єднання, тобто «fission». Такі зміни супроводжуються накопиченням окисненого допаміну, що викликає акумуляцію α -синуклеїну і порушення функції лізосом. Останній фактор негативно впливає на функцію мітохондрій і, таким чином, утворюється метаболічне хибне коло, котре сприяє нейродегенерації [23].

У разі застосування капікору суттєво зменшувалися прояви мітохондріальної дисфункції в тканині стріатуму. Активувався морфогенез мітохондрій зі зростанням їх кількості (на 20,5%); відновлювався мітохондріальний конвеєр зі зменшенням на 19,3% структурно пошкоджених органел. Неочікуваним результатом виявлялася виражена активація синтезу білка, про що свідчило зростання як загальної кількості вільних, зв'язаних та внутрішньоядерних рибосом,

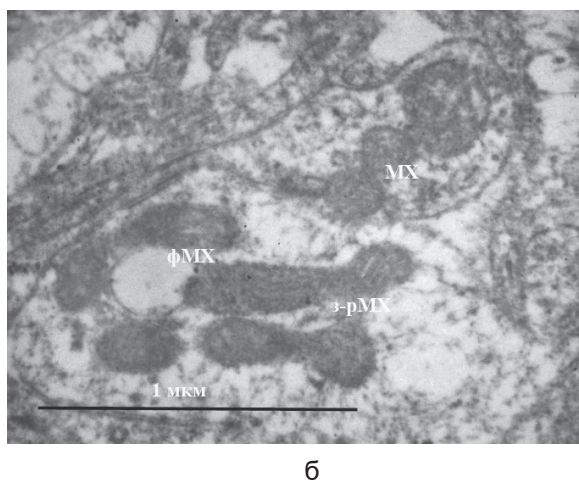
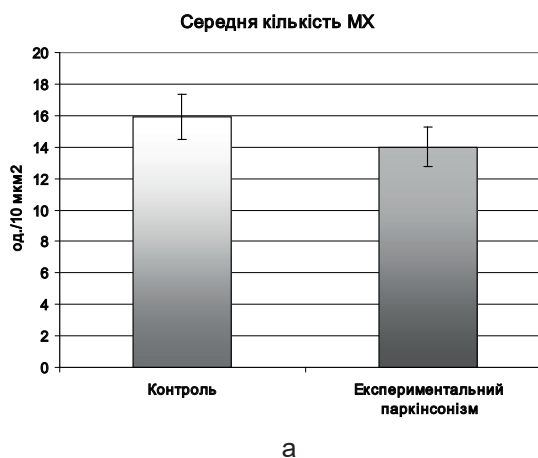


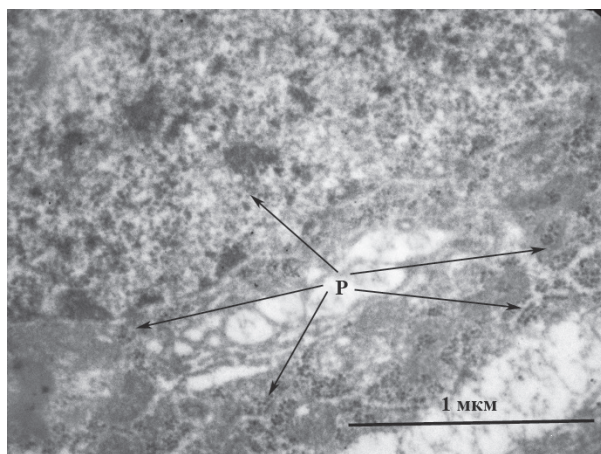
Рис. 3. Кількість та динамічні процеси у мітохондріях тканини стріатуму при тривалому введенні ротенону. МХ – мітохондрії, з-рМХ – процес «злиття-роз'єднання» мітохондрій, фМХ – фрагментація МХ. Масштабна лінія відповідає 1 мкм

так і рибосом, зібраних в активно синтезуючі структури – розетки. Суттєво посилювалися динамічні процеси в мітохондріях клітин (рис. 4 а, б).

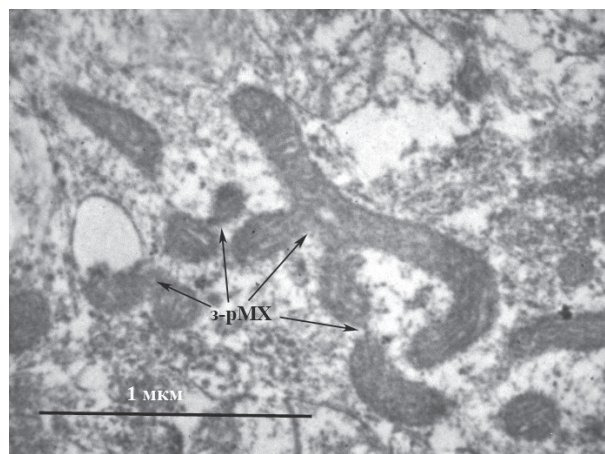
Отже, застосування препарату капікор при досліджуваній нейродегенеративній патології позитивно впливає на ультраструктуру мітохондрій з формуванням певних компенсаторно-приспосувальних змін, які вказують на зростання енергетичної потужності органел. Значна активація синтезу білка є вкрай важливим фактором, що може сприяти напрацюванню в клітинах пластичного матеріалу, потрібного для відновлення структури тканин, пошкоджених за умов ротенонової інтоксикації.

Підсумовуючи результати наших досліджень, можна констатувати, що застосування капікору мало позитивний вплив як на процеси окисного фосфорилування, так і на про- та антиоксидантний баланс у мітохондріях головного мозку щурів за умов розвитку паркінсоноподібного синдрому. Вплив заключався у нормалізації функції дихального ланцюга мітохондрій, підвищеному синтезі АТФ, послабленні інтенсивності оксидативних процесів зі зниженням вмісту вторинних продуктів ПОЛ, відновленні глутатіонового пулу мітохондрій, підвищенні антиперекисного захисту мітохондрій. Крім

того активувалися динамічні процеси в мітохондріях та їх морфогенез, синтез білка у нейронах. Ці результати збігаються з даними нашої недавньої праці, в якій було показано, що застосування капікору у хворих на ХП сприяє нормалізації про- та антиоксидантного балансу в плазмі крові, попередженні деградації мітохондрій та елімінації пошкоджених мітохондрій у тромбоцитах крові [24]. Ми вважаємо, що ефективність капікору при ХП здебільшого пов'язана з його складовою – γ -бутиробетаїндигідратом, який здатний гальмувати розвиток мітохондріальної та ендотеліальної дисфункцій та зберігати запаси АТФ і креатинфосфату в клітинах за різних патологічних умов [25]. Можливо, ця речовина може діяти через *DJ-1*-пов'язаний шлях, тому що при моделюванні ХП за допомогою ротенону і МРТР у мишей було показано, що фенілбутират збільшує експресію *DJ-1*, захищає DA нейрони в SNpc, зменшує порушення моторних і когнітивних функцій [26]. Як було нещодавно встановлено, *DJ-1* відіграє значну роль як в елімінації дисфункціональних мітохондрій, так і в антиоксидантному захисті при ХП [26]. Антиоксидантні властивості білка *DJ-1* можуть бути зумовлені його здатністю стабілізувати транскрипційний фактор Nrf2 (головний регулятор антиоксидантного захисту) та підвищувати вміст внутрішньоклітин-



а



б

Рис.4. Ультраструктура стріатуму при тривалому введенні ротенону та застосуванні капікору. Р – рибосоми (а), з-рМХ – процес «злиття-роз'єднання» мітохондрій (б). Масштабна лінія відповідає 1 мкм

ного глутатіону [27]. Оскільки застосування капікору призводить до значного підвищення вмісту антиоксидантних ферментів, які регулюються ланкою Nrf2/ARE, ми можемо припустити, що він впливає на ці регуляторні шляхи.

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 coauthors of the article.

И.Н. Маньковская, О.А. Гончар, В.И. Носарь, Е.В. Розова, Л.В. Братусь, Е.Э. Колесникова, Ю.В. Путий, И.Н. Карабань

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ И ОКСИДАТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПАРКИНСОПОДОБНОГО СИНДРОМА: КОРРЕГИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КАПИКОРА

Изучали биофизические, биохимические, патоморфологические характеристики развития митохондриальной дисфункции и оксидативного стресса в головном мозге крыс при ротенониндуцированном паркинсоподобном синдроме, а также влияние на эти процессы препарата капикор (мельдонийдигидрат в комбинации с γ -бутиробетайн дигидратом). Исследовали изменения морфофункционального состояния, про- и антиоксидантного баланса, дыхания и фосфорилирования митохондрий головного мозга крыс при экспериментальном паркинсонизме под влиянием капикора. Показано, что паркинсоподобный синдром связан с деструктивными поражениями структуры митохондрий и пертурбациями митохондриальной динамики в стриатуме, выраженными нарушениями про- и антиоксидантного баланса в митохондриях мозга, характерными для развития оксидативного стресса, а также ингибированием НАДН-оксидазного пути окисления и снижением продукции АТФ в митохондриях, т.е. развитием митохондриальной дисфункции. Под действием капикора в мозгу крыс с паркинсоническим синдромом происходили положительные изменения в морфофункциональном состоянии митохондрий с активацией их биогенеза и динамических процессов. Это сопровождалось ослаблением интенсивности оксидативных процессов со снижением содержания вторичных продуктов ПОЛ, восстановлением глутатионового пула, повышением антиперекисной защиты митохондрий. Капикор оказывал выраженное коррегирующее действие на скорость АДФ-стимулированного дыхания, сопряжения дыхания

с фосфорилированием, энергетическую эффективность синтеза АТФ в митохондриях.

Ключевые слова: паркинсонический синдром; митохондриальная дисфункция; оксидативный стресс; капикор.

I.M. Mankovska¹, O.O. Gonchar¹, V.I. Nosar¹, K.V. Rozova¹, L.V. Bratus¹, E.E. Kolesnikova¹, Yu.V. Putii¹, I.M. Karaban²

MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION AND OXIDATIVE LESIONS IN RAT BRAIN UNDER MODELING OF PARKINSON'S LIKE SYNDROME: CORRECTIVE ACTION OF CAPICOR

It was studied the influence of Capicor (containing Mel-donium dihydrate and gamma-butyrobetain dehydrate) on morphofunctional state, pro- and antioxidant balance, respiration and phosphorylation in rat brain mitochondria under rotenone-induced Parkinson's-like syndrome. It was shown that this syndrome is characterized by destructive changes in mitochondrial structure, the mitochondrial dynamic perturbations in striatum, the marked disturbances of pro- and antioxidant balance as well as of respiration and phosphorylation in brain mitochondria. After Capicor administration, there was demonstrated the positive changes in mitochondrial structure with an increase in mitochondrial total number and a decrease in the number of damaged mitochondria in striatum. Under the action of Capicor, there was demonstrated a reduction in oxidative stress expressiveness in brain mitochondria with a decrease in TBA-active products content, a rise in glutathione peroxidase and Mn-SOD activities. After Capicor administration, there was shown the significant increase in mitochondrial respiration rate (V_3) as well as in effectiveness of ATP synthesis (V_3/V_4^{ATP} , ADP/O). So, Capicor is shown to be effective in the reduction of mitochondrial dysfunction and oxidative disturbances in rat brain mitochondria under rotenone induced Parkinson's-like syndrome.

Key words: Parkinson's-like syndrome; mitochondrial dysfunction; oxidative stress; Capicor.

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

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

REFERENCES

1. Frank C, Pari G, Rossiter JP. Approach to diagnosis of Parkinson disease. *Can Fam Physician*. 2006;52: 862–68.
2. Hudson G. The ageing brain, mitochondria and neurodegeneration. *Mitochondria dysfunction in neurodegenerative disorders*. Springer Int Publishing. 2016;59–80.
3. Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2003; 53 (suppl 3):S26–36
4. Chaturvedi RK, Beal M. Mitochondrial approaches for

- neuroprotection. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1147:395–412.
5. Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, Irvin I. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science.* 1983;219:979–80.
 6. Majd S, Power JH, Grantham HJ. Neuronal response in Alzheimer's and Parkinson's disease: the effect of toxic proteins on intracellular pathways. *BMC Neurosci.* 2015;16:69.
 7. Picard M, McManus MJ. Mitochondrial signaling and neurodegeneration. *Mitochondria dysfunction in neurodegenerative disorders.* Springer Int Publishing. 2016; 107-37.
 8. Rozova EV, Mankovskaya IN, Karasevich NV, Karaban I.N. Mitochondrial dysfunction as a characteristic of multi-organ pathology in Parkinson's disease: clinical and experimental research. *Parkinson's disease and movement disorders (Manual for Physicians).* Moscow, 2017;42-45. [Russian].
 9. Talanov SA, Kotsyuruba AV, Korkach YuP, Sagach VF. Oxidative stress in cardiovascular system of rats with chronic deficit of cerebral dopamine. *Fiziol Zh.* 2009;55(4):32-40. [Ukrainian].
 10. Rozova KV, Mankovska IM, Gonchar OO, Drevytska TI, Karaban IM, Karasevich NV. The corrective influence of Capicor in experimental parkinsonism and Parkinson's disease. *Ukr Visn Psykhonevrol.* 2017;25 (1):102-03. [Ukrainian].
 11. Milyukhina IV, Abdurasulova IN, Korzhevsky DE, Climenko VM. Expressiveness of the Parkinson's disease symptoms in rats under different modes of rotenone injection. *Parkinson's disease and movement disorders (Manual for Physicians).* Moscow, 2017;380-81. [Russian].
 12. Chance B, Williams G. The respiratory chain and oxidative phosphorylation. *Adv Enzymol.* 1956; 17: 65-134.
 13. Estabrook RW. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP/O ratios. *Methods Enzymol.* 1967;10:41-7.
 14. Buege J., Aust S., Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; LII: 302-08.
 15. Anderson M. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol.* 1985; 113: 548-51.
 16. Putilina F.E. Biochemical assay of glutathione enzymes. *Methods Biochem.* 1982; 1: 174-6.
 17. Misra H, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972; 247(10): 3170-5.
 18. Karupu VYa. The electron microscopy. K.:High school; 1984. [Russian].
 19. Osipov VP, Lukyanova EM, Antipkin YuG, Brusilova EM, Marushko RV. The technique of statistical processing of medical information in scientific research. K: Planet of people; 2002. [Russian].
 20. Dickinson D, Forman H. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol.* 2002; 64: 1019-26.
 21. Dringen R. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog Neurobiol.* 2000;62:649.
 22. Zeevalk G, Razmpour R, Bernard L. Glutathione and Parkinson's disease: Is this the elephant in the room? *Biomed Pharmacotherapy.* 2008;62:236-49.
 23. Burbulla LF, Song P, Mazzulli JR, et al. Dopamine oxidation mediates mitochondrial and lysosomal dysfunction in Parkinson's disease. *Science.* 2017; 357(6357):1255-61.
 24. Mankovska IM, Rozova KV, Gonchar OO, Nosar VI, Bratus LV, Drevitska TI, Karasevich NV, Karaban IM. Effect of Capicor on the Parkinson's disease pathogenic links. *Fiziol Zh.* 2018;64(1):16-24. [Ukrainian].
 25. Artyushkova EV. Increase in the level of gamma-butyrobetaine – a pharmacological target for the correction of endothelial dysfunction. *Kuban Sci Med Bul.* 2009;(4): 72-5. [Russian].
 26. Inden M, Kitamura Y, Takeuchi H. Neurodegeneration of mouse nigrostriatal dopaminergic system induced by repeated oral administration of rotenone is prevented by 4-phenylbutyrate, a chemical chaperone. *J Neurochem.* 2007;101:1491–1504.
 27. Clements CM, McNally, Conti BJ, et al. DJ-1, a cancer- and Parkinson's disease-associated protein, stabilizes the antioxidant transcriptional master regulator Nrf2. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:15091-96.

*Матеріал надійшов
до редакції 10.05.2018*