

О. О. Гончар¹, Л. В. Братусь¹, І. М. Карабань², І. М. Маньковська¹

Вплив Капікору на зміни білкових маркерів розвитку окисного стресу в мітохондріях мозку щурів за умов моделювання хвороби Паркінсона

¹Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України, м. Київ²Державна установа «Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: Капікор, ротенон, мозок, мітохондрії, окисний стрес, протективні мітохондріальні білки

Епідеміологічні дослідження останнього десятиріччя встановили беззаперечну здатність окремих токсинів оточуючого середовища (ротенон, пестициди, гербіциди) викликати неврологічні порушення, подібні до хвороби Паркінсона (ХП) [1, 2]. Ці агенти відтворюють в експерименті майже всі основні клінічні, нейрохімічні, патоморфологічні та молекулярні характеристики ХП, включаючи високоселективну дегенерацію дофамінергічних нейронів і накопичення в мозку типових інтрацитоплазматичних убіквітин- та α -синуклеїн-позитивних включень [3]. З другого боку, ці токсини викликають одночасно розвиток окисного стресу – підвищують рівні активних форм кисню (АФК) і перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у мітохондріях дофамінергічних нейронів мозку та різко пригнічують функціонування мітохондріального комплексу I [4]. На цих доказах базується уявлення про те, що мітохондріальна дисфункція та тісно пов'язаний з нею окисний стрес з порушенням балансу між утворенням АФК і станом антиоксидантного захисту в нервовій тканині є найважливішими серед патогенетичних факторів розвитку паркінсоноподібного синдрому, який викликаний токсинами оточуючого середовища [5]. Відомо, що за умов ротенонової інтоксикації мітохондрії є одним з основних джерел утворення вільних радикалів, гіперпродукція яких здатна пошкоджувати будь-які макромолекули клітин (протеїни, ДНК, ліпі-

ди). З іншого боку, самі мітохондрії (у першу чергу їхні білкові структури) можуть бути мішенями для цих атак [6]. Вважають, що саме окисна модифікація білків (ОМБ), а не ПОЛ, є більш надійним маркером окисного стресу в мозковій тканині [7–9]. Іншим білковим маркером розвитку окисного стресу в мітохондріях мозку є зниження активності мітохондріальної аконітази, оскільки супероксиданіон радикал $O_2^{\cdot -}$ є основним фактором, що відповідає за порушення кластера $[4Fe-4S]^{2+}$ ферменту та призводить до втрати його функціональної активності [10].

Шкідливому впливу АФК запобігає потужна мітохондріальна антиоксидантна система мозку, ключовими ферментами якої є Mn-супероксиддисмутаза (MnСОД) та глутатіонпероксидаза (ГП), що діють у взаємозв'язку, і від злагодженості дій яких значною мірою залежить резистентність клітинних структур до впливу окисного стресу [8].

Перспективним напрямом в аспекті пошуку нейропротективних стратегій для протидії згубним наслідкам акумуляції АФК є фармакологічна активація ендогенних антиоксидантних мітохондріальних систем [11].

Останніми роками велику увагу привертає інноваційна група препаратів комплексної цито- та мітопротекції, до якої відноситься вже добре знайомий препарат мельдоній [12]. Показано, що фіксована комбінація гамма-бутиробетайн дигідрату (60 мг) і мельдонію дигідрату (180 мг) під назвою Капікор (АТ «Олайнфарм», Латвія) сприяє більш фізіологічному утворенню ефірів гамма-бутиробетайну і, як наслідок, зниженню інтенсивності окиснення жир-

них кислот, активації гліколізу, більш активному синтезу окису азоту. Капікор покращує церебральну гемодинаміку, нормалізує метаболізм нервових клітин, оптимізує споживання кисню тканинами мозку. В експериментальних і клінічних дослідженнях доведено антиоксидантну дію Капікору через інгібування ПОЛ і зменшення пошкодження мембран, яке викликається вільними радикалами [13]. Однак вплив Капікору на білкові структури про- та антиоксидантної системи в мітохондріях мозку за паркінсонізму ще остаточно не з'ясований.

Мета дослідження – встановити ефективність використання препарату Капікор для корекції змін білкових компонентів про- та антиоксидантної системи мітохондрій мозку щурів за моделювання ХП ротеноном.

Матеріали та методи. Експерименти проводили на 30 щурах-самцях Вістар масою 230–250 г, які знаходились на стандартному раціоні. Тварин розподіляли на групи по 6 тварин у кожній: 1 – контроль (інтактні); 2 – тварини, яким за загальноприйнятою схемою [14] впродовж 14 днів одноразово підшкірно (п/ш) вводили ротенон у дозі 3 мг/кг маси тіла (як розчинник використовували суміш ДМСО та поліетиленгліколю 1:1) (Ротен); 3 – тварини, яким після відтворення ротенової інтоксикації ще додатково наступні 14 днів внутрішньочеревинно (в/о) вводили Капікор (АТ «Олайнфарм», Латвія) на фізіологічному розчині в дозі 50 мг/кг (Ротен + Капікор) [15]; 4 і 5 – як додаткові контролю тваринам вводили відповідні розчинники в тому самому об'ємі, що й щурам 2 і 3 груп (4 групі – п/ш суміш ДМСО та поліетиленгліколю; 5 групі – п/ш ротенон + в/о фізіологічний розчин). Тварин декапітували під легким ефірним наркозом відразу після закінчення введення Капікору. Щурів утримували 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 р.).

Після декапітації щурів мозок швидко виділяли та промивали охолодже-

ним розчином 0,9 % КСl, подрібнювали та гомогенізували в 5-разовому об'ємі середовища (250 ммоль/л сахарози, 20 ммоль/л тріс-НСl буфера, 1 ммоль/л ЕДТА, 1мг/мл БСА; рН 7,4). Мітохондрії з мозку щурів виділяли шляхом диференційного центрифугування за допомогою центрифуги Allegra X-22R W/F24024 «Bectan Coulter, GMI Inc, UK» за температури 4 °С. Для виділення мітохондрій гомогенат центрифугували 7 хв, 1000 g (I етап), потім супернатант центрифугували 15 хв, 12 000 g (II етап). Осад суспендували в невеликому об'ємі середовища без додавання ЕДТА і БСА та зберігали на льоду. Вміст білка визначали за методом Бредфорда.

У суспензії мітохондрій досліджували вміст ОМБ [16] і перекису водню [17]. Про ступінь ОМБ робили висновок за кількістю 2,4-динітрофенілгідразонів, визначених спектрофотометрично за довжини хвилі 370 нм, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання $22\ 000^{-1}\ \text{cm}^{-1}$. Вміст відновленого глутатіону (GSH) вивчали за [18]. Активність селен-залежної глутатіонпероксидази (ГП: КФ 1.11.1.9) визначали реєстрацією швидкості окиснення НАДФН у присутності GSH, перексиду водню та надлишку глутатіонредуктази (2,4 U/мл) [19]. Активність мітохондріальної аконітази, НАДН-дегідрогенази та MnСОД визначали за методами [20–22]. Рівень експресії білка ГП і MnСОД у мітохондріальній фракції мозку визначали за допомогою Western-blott-аналізу. Білки розділяли в 12 % поліакриламідному гелі на обладнанні BioRad і переносили на PVDF мембрану за допомогою електроелектроелектроелюції. Застосовували первинні моноклональні антитіла до MnСОД (1:1000 «Sigma-Aldrich Co», США), ГП (1:500 «Sigma-Aldrich Co», США), β-актину (1:1000, «Sigma-Aldrich Co», США) і вторинні антитіла, кон'юговані з пероксидазою хрому (1:2000, «Sigma-Aldrich Co», США). Кількісний розрахунок отриманих імуноблотів проводили за допомогою їхнього сканування та обробки комп'ютерною програмою GelPro. Вміст білка визначали за методом Бредфорда. Результати досліджень оброблено загальноприйнятими

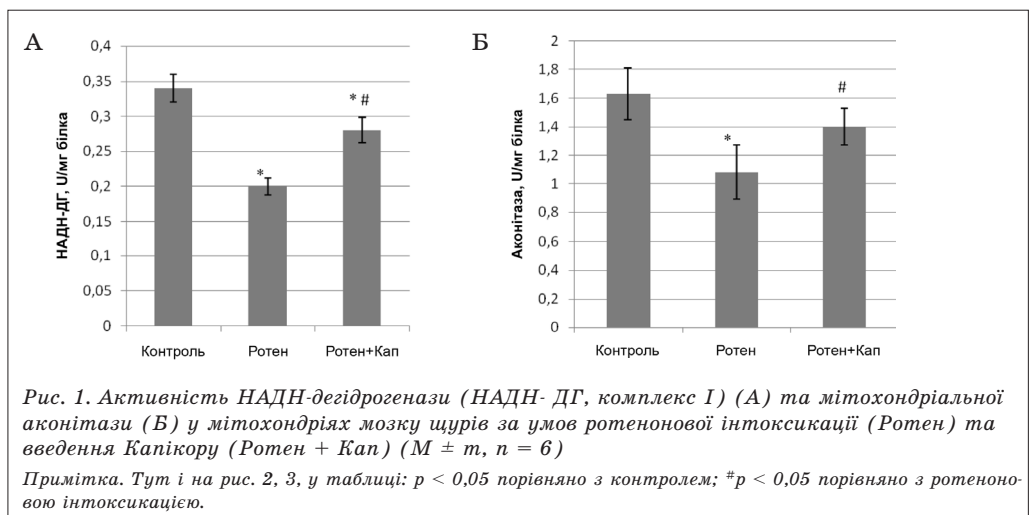
методами варіаційної статистики за програмою «Origin 7,0». Вірогідність розходжень між групами порівняння була визначена методом дисперсійного аналізу (ANOVA) з наступним тестом Bonferroni (post-hoc test).

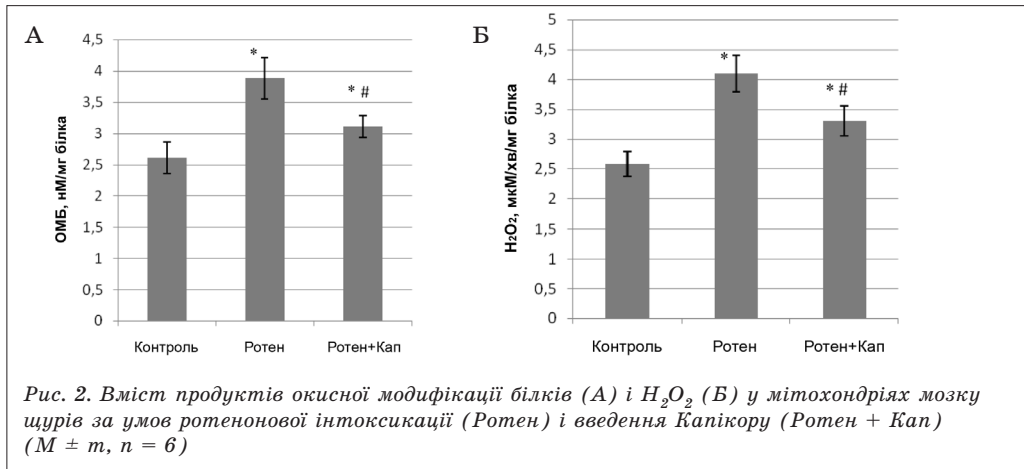
Результати та їх обговорення. За умов п/ш введення ротенону щурам крім загальнотоксичних проявів відмічалися специфічні нейротоксичні ознаки, притаманні розвитку паркінсоноподібного синдрому: напади каталепсії, птоз, поява характерного «горбатого» силуету та постуральної нестабільності. Треба зауважити, що всі показники про- та антиоксидантного стану мітохондрій мозку, які були зареєстровані в групах тварин 4 і 5, мали мінімальні розбіжності з аналогічними параметрами в групах 1 і 2 відповідно. Тобто застосовані розчинники досліджуваних речовин (ротенон і Капікор) не мали суттєвого впливу на вищевказані показники. Виходячи з цього, ми не включили дані, отримані в тварин 4 і 5 груп, до рисунків і таблиці, щоб уникнути переважання матеріалу. Раніше нами було показано, що тривале введення ротенону викликає в мітохондріях мозку ознаки дисфункції: надмірну генерацію супероксид аніона (за рахунок блокади комплексу I дихального ланцюга мітохондрій), зниження мембранного потенціалу та швидкості синтезу АТФ, порушення кальцієвого гомеостазу, відкриття мітохондріальної пори [23]. У даній роботі тривале введення ротенону призводило до частко-

вої блокади комплексу I дихального ланцюга мітохондрій мозку (активність ферменту НАДН-дегідрогенази знижувалась на 41 % порівняно з контролем, $P < 0,05$), що, як відомо, може викликати надмірну генерацію супероксид аніона, який призводить до утворення інших, більш реактивних форм кисню та може стати тригером клітинної деструкції (рис. 1, А). Прямим підтвердженням зростання рівня $O_2^{\cdot -}$ у мітохондріях мозку за даних умов є встановлене зниження активності мітохондріальної аконітази (на 34 % на відміну від контролю, $P < 0,05$) (рис. 1. Б).

Інактивація аконітази може блокувати нормальний потік електронів до кисню, що сприяє накопиченню відновлених метаболітів, таких як NADH. Цей стан, відомий як «редуктивний стрес», може викликати посилення утворення АФК за рахунок автоокиснення відновлених метаболітів і подальше збільшення окисного пошкодження мітохондрій [6]. Такий розвиток подій підтверджується даними щодо інтенсифікації окисних процесів у мітохондріях мозку щурів. Так, було встановлене зростання вмісту продуктів ОМБ – карбонільних груп на 49 % порівняно з контролем ($P < 0,05$) (рис. 2, А). На значну інтенсифікацію окисних процесів у мозку за ротенонової інтоксикації вказує й збільшення в мітохондріях продукції H_2O_2 – на 59 % порівняно з контролем ($P < 0,05$) (рис. 2 Б).

З окисною деструкцією білків пов'язані порушення рецепторного апа-





рату нейронів й іонних каналів, зниження активності Na^+K^+ -АТФази, глутамінсинтази, ферментів, що забезпечують підтримку іонного градієнта та зниження концентрації збудливих медіаторів [8]. Окисній модифікації піддаються майже всі амінокислотні залишки, що може викликати утворення внутрішньо- та міжмолекулярних зв'язок, агрегацію та фрагментацію протеїнів, зміну їхньої чутливості до протеолізу [9]. Негативний ефект від збільшення вмісту окисно модифікованих протеїнів у клітині може бути пов'язаний з тим, що самі ОМБ здатні бути додатковим джерелом вільних радикалів, впливаючи на активність ферментів аж до повної їхньої інактивації [8, 9].

Як відомо, у мітохондріях першим і важливим ферментом, який є каталізатором у реакціях дисмутації супероксид-аніон-радикалів з утворенням молекулярного кисню та пероксиду водню, є МпСОД. Це дає підстави визначати цей

протеїн первинною лінією захисту, що обриває окиснення клітинних макромолекул ще на стадії ініціювання [24]. У наших досліджах за умов тривалої ротенонової інтоксикації активність МпСОД знижувалася на 20 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем (таблиця), а кількість білка МпСОД мала лише тенденцію до зниження відносно контролю ($P > 0,05$).

Надмірне утворення гідроксильних радикалів і перекису водню здатне викликати окисну модифікацію амінокислотних послідовностей в активному центрі ферменту МпСОД, що може бути причиною фрагментації молекули МпСОД з подальшою втратою функціональної активності [25]. Можна припустити, що встановлене нами значне збільшення концентрації H_2O_2 за цих умов призводило до інактивації та деградації МпСОД.

Про зменшення антиоксидантного потенціалу мітохондрій за дії ротенону свідчить зниження в мітохондріях

Таблиця

Вміст відновленого глутатіону, активність глутатіонпероксидази та Мп-супероксиддисмутази у мітохондріях мозку щурів за умов ротенонової інтоксикації та введення Капікору ($M \pm t, n = 6$)

Найменування	Відновлений глутатіон, нмоль/мг білка	Глутатіон пероксидаза, нмоль/хв/мг білка	Мп-супероксиддисмутаза, у. о./мг білка
Контроль	4,08 ± 0,42	5,58 ± 0,39	5,56 ± 0,42
Ротенонова інтоксикація	2,46 ± 0,31*	4,18 ± 0,35*	4,47 ± 0,28*
Ротенонова інтоксикація + Капікор	3,58 ± 0,28#	5,10 ± 0,41#	5,75 ± 0,33#

мозку щурів рівня GSH (на 40 %, $P < 0,05$) і блокування активності глутатіон-залежного ферменту ГП (таблиця).

Виявлене зниження активності ГП (на 25 %, $P < 0,05$) у тварин 2 групи порівняно з контролем, ймовірно, було зумовлене зниженням синтезу білка ГП (на 35 %, $P < 0,05$), що було зафіксовано методом Western-bloTT-аналізу (рис. 3).

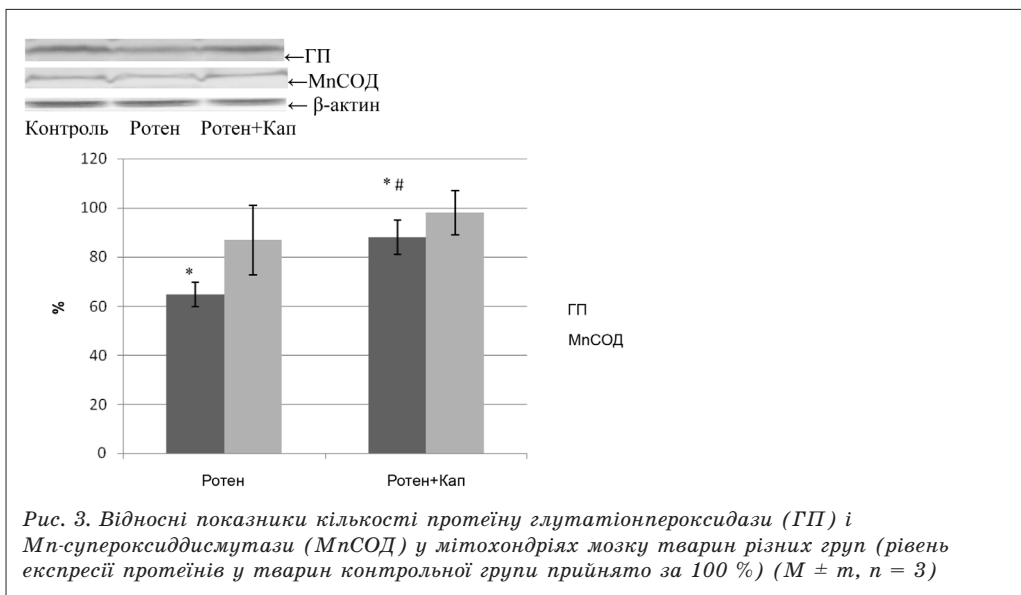
Ми не виключаємо також вплив на активність ГП поступового вичерпання пулу GSH (який є кофактором цього ферменту) в антирадикальних реакціях, а також підвищення чутливості до $O_2^{\cdot-}$, який може бути інгібітором ГП [26]. Усе це збігається з повідомленнями, що в хворих на ХП поряд з посиленням окисного стресу відбувається різке зниження вмісту GSH та активності глутатіон-залежних ферментів [27].

Отримані дані свідчать, що за умов ротенон-індукованого паркінсоноподібного синдрому в мітохондріях мозку відбуваються такі зміни білкових компонентів про- та антиоксидантного гомеостазу, які призводять до посилення окисних процесів із пригніченням захисних ланок.

Введення Капікору мало позитивний вплив на білкові компоненти про- та антиоксидантного балансу в мітохондріях мозку щурів. У тварин 3 групи відбувалося зниження вмісту продуктів ОМБ і H_2O_2 на 20 і 21 % відповідно порівняно з аналогічними показниками

в тварин 2 групи ($P < 0,05$), що свідчить про послаблення інтенсивності окисних процесів (рис. 2, А, Б). Непрямим доказом цього є підвищення активності ферменту комплексу I дихального ланцюга мітохондрій на 40 % ($P < 0,05$), а також активності мітохондріальної аконітази на 30 % ($P < 0,05$) (рис. 1, А, Б).

Відомо, що адекватна відповідь клітин на дію ксенобіотика (яким є ротенон) залежить від її окисно-відновленого стану, який через зміни рівня відновленості низькомолекулярних сполук (глутатіон, тіоредоксин та ін.) та ефективності системи антиоксидантного захисту визначає метаболічну відповідь на дію токсину [28]. Застосування Капікору в щурів 3 групи призводило до поступового відновлення глутатіонового пулу мітохондрій мозку щурів: вміст GSH зростав на 46 %, на відміну від аналогічного показника в щурів 2 групи, $P < 0,05$ (таблиця). Про підвищення антиперекисного захисту мітохондрій за умов використання Капікору за ротенон-токсичної моделі паркінсонізму свідчить зростання активності та синтезу білка ГП у мозку щурів на 22 і 23 % відповідно ($P < 0,05$) (таблиця, рис. 3). Слід відмітити встановлене відновлення як активності, так і вмісту білка MnСОД до контрольних показників (таблиця, рис. 3), що співпадає з твердженням інших авторів про здатність мельдонію активувати в нервових клітинах синтез протективних протеїнів [12].



Таким чином, застосування Капікору призводить до зниження ротенон-індукованого пошкодження мітохондрій мозку щурів, про що свідчить посилення експресії протективних антиоксидантних білків на фоні послаблення інтенсивності оксидації мітохондріальних білків, задіяних в окисних процесах.

Щодо вивчення генетичних механізмів дії досліджуваного препарату слід вказати, що воно знаходиться ще на початковому етапі. Так, нами було встановлено, що застосування Капікору в хворих на ХП попереджує деградацію мітохондрій і сприяє елімінації пошкоджених мітохондрій у тромбоцитах крові, імовірно, активуючи PINK1/Parkin-залежний шлях мітофагії та викликаючи надекспресію гена *Parkin* [15]. У той самий час відомо, що надекспресія білка *Parkin* може бути компенсаторним механізмом у разі зниження синтезу білка DJ-1 – основного регулятора антиоксидантної відповіді клітин на окисний стрес [29]. Дійсно, у нашій лабораторії в експериментах на щурах були отримані дані про значне зниження експресії гена *PARK-7* (який кодує нейропротективний білок DJ-1) у міокарді за ротенон-індукованої ХП.

Застосування Капікору за умов цієї експериментальної моделі вірогідно підвищило експресію *PARK-7*, що може опосередковано вказувати на зростання антиоксидантного потенціалу тканини, що вивчалася.

Висновки

1. Застосування Капікору в щурів за ротенонової інтоксикації призводить до зниження окисної модифікації мітохондріальних білків, підвищення активності мітохондріальної аконітази та відновлення активності НАДН-дегідрогенази в мітохондріях мозку щурів, що свідчить про послаблення «спалаху» окисних процесів.
2. Досліджений мітопротективний препарат Капікор здатний підвищувати антиоксидантний потенціал мітохондрій мозку, збільшуючи активність і синтез протективних білків MnСОД і ГП, а також впливати на вміст GSH.
3. Застосування препаратів, які гальмують розвиток окисного стресу в мітохондріях головного мозку через вплив на білкові компоненти про- та антиоксидантної системи, може бути перспективним напрямом у фармакологічній терапії ХП.

1. Tanner C. M. Advances in environmental epidemiology. *Mov. Disord.* 2010. V. 25, Suppl. 1. P. 58–62.
2. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. K. Wirdefeldt, H. O. Adami, P. Cole et al. *Eur. J. Epidemiol.* 2011. V. 26, Suppl. 1. P. 1–58.
3. Environmental toxins trigger PD-like progression via increased alpha-synuclein release from enteric neurons in mice. F. Pan-Montojo, M. Schwarz, C. Winkler et al. *Sci Rep.* 2012. V. 2. P. 898–914.
4. Testa C. M., Sherer T. B., Greenamyre J. T. Rotenone induces oxidative stress and dopaminergic neuron damage in organotypic substantia nigra cultures. *Brain Res Mol Brain Res.* 2005. V. 134 (1). P. 109–118.
5. Picard M., McManus M. J. Mitochondrial signaling and neurodegeneration. In: A. K. Reeve, E. M. Simcox, M. R. Duchon, D. M. Turnbull, eds. *Mitochondrial Dysfunction in Neurodegenerative Disorders.* Springer Int Publishing. 2016. P. 107–137.
6. Jezek P., Hlavata L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *Int. J. Biochem. & Cell Biol.* 2005. V. 37. P. 2478–2503.
7. Дубініна О. Ю. Роль окисного стресу при патологічних станах нервової системи. *Медична хімія.* 2002. Т. 4 (4). С. 5–12.
8. Лук'яничук В. Д., Савченкова Л. В., Бібік О. Ю. Окисний гомеостаз мозку при ішемії і досвід експериментальної фармакотерапії. *Журнал АМН України.* 2001. Т. 7 (4). С. 647–659.
9. Berlett B. S., Stadtman E. R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 20313–20316.
10. Bulteau A., Ikeda-Saito M., Szweda L. Redox-dependent modulation of aconitase activity in intact mitochondria. *Biochemistry.* 2003. V. 42 (50). P. 14846–14855.
11. Novel approaches to correction of mitochondrial dysfunction and oxidative disorders in Parkinson's disease. O. Gonchar, I. Mankovska, K. Rozova et al. *Фізіологічний журнал.* 2019. Т. 65. № 3. С. 61–72.
12. Mildronate and its Neuroregulatory Mechanisms: Targeting the Mitochondria, Neuroinflammation, and Protein Expression. V. Klusa, U. Beitnere, J. Pupure et al. *Medicina (Kaunas).* 2013. V. 49 (7). P. 301–309.

13. Корекція фіксованою комбінацією мельдонію з гамма-бутиробетаїном мітохондріальної дисфункції печінки щурів за умов ротенонової інтоксикації. І. М. Маньковська, О. О. Гончар, В. І. Носар та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2018. № 6 (61). С. 60–68.
14. Выраженность симптомов болезни Паркинсона у крыс при различных способах введения ротенона. И. В. Милухина, И. Н. Абдурасулова, Д. Э. Коржевский, В. М. Клименко. Болезнь Паркинсона и расстройства движения (руководство для врачей): под ред. С. Н. Иллариошкина, О. С. Левина. Москва, 2011. С. 380–381.
15. Вплив капікору на патогенетичні ланки хвороби Паркінсона. І. М. Маньковська, К. В. Розова, О. О. Гончар та ін. *Фізіологічний журнал*. 2018. Т. 64 (1). С. 16–24.
16. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. R. L. Levine, D. Garland, C. N. Oliver et al. *Meth. Enzymol.* 1990. V. 186. P. 464–478.
17. Wolff S. Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. *Methods in Enzymology*. 1994. V. 233. P. 182–189.
18. Sedlak J., Lindsay R. H. Estimation of total, protein bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*. 1968. V. 25. № 1. P. 192–205.
19. Flohe L., Gunzler W. A. Assay of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 1984. V. 105. P. 114–120.
20. Hausladen A., Fridovich I. Measuring nitric oxide and superoxide: rate constants for aconitase reactivity. *Methods Enzymol.* 1996. V. 269. P. 37–41.
21. Hatefi Y. Preparation and properties of NADH: Ubiquinone Oxidoreductase (Complex I). *Methods Enzymol.* 1978. V. LIII. P. 11–15.
22. Misra H., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 1972. V. 247. P. 3170–3175.
23. Мітохондріальна дисфункція та оксидативні порушення у мозку щурів при моделюванні паркінсоподібного синдрому: коригувальна дія капікору. І. М. Маньковська, О. О. Гончар, В. І. Носар та ін. *Фізіологічний журнал*. 2018. Т. 64. № 4. С. 82–90.
24. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 1995. V. 64. P. 97–112.
25. Buettner R. Superoxide Dismutase in Redox Biology: The roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anticancer Agents Med Chem.* 2011. V. 11 (4). P. 341–346.
26. Dickinson D., Forman H. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 2002. V. 64. P. 1019–1026.
27. Zeevalk G., Razmpour R., Bernard L. Glutathione and Parkinson's disease: Is this the elephant in the room. *Biomed. Pharmacotherapy*. 2008. V. 62. P. 236–249.
28. Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. M. Mari, A. Morales, A. Colell et al. *Antiox. Redox. Sign.* 2009. V. 11. P. 2685–2700.
29. The Parkinson's disease protein DJ-1 is neuroprotective due to cysteinesulfinic acid-driven mitochondrial localization. R. M. Canet-Aviles, M. A. Wilson, D. W. Miller et al. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2004. V. 5 (2). P. 213–218.

О. О. Гончар, Л. В. Братусь, І. М. Карабань, І. М. Маньковська
Вплив Капікору на зміни білкових маркерів розвитку окисного стресу
в мітохондріях мозку щурів за умов моделювання хвороби Паркінсона

Досліджували вплив препарату Капікор (комбінація гамма-бутиробетаїн дигідрату і мельдонію дигідрату) на білкові маркери про- та антиоксидантної системи мітохондрій мозку щурів за умов ротенон-токсичної моделі хвороби Паркінсона (ХП).

Мета дослідження – встановити ефективність використання препарату Капікор для корекції змін білкових компонентів про- та антиоксидантної системи мітохондрій мозку щурів за моделювання ХП ротеноном.

Було показано, що внутрішньоочеревинне введення Капікору (50 мг/кг) щодня впродовж 14 днів підвищувало активність ферменту НАДН-дегідрогенази (комплекс I дихального ланцюга мітохондрій) і мітохондріальної аконітази, зменшувало вміст окисно модифікованих протеїнів, що свідчить про послаблення окисних процесів. Це відбувалося на тлі зростання вмісту відновленого глутатіону, відновлення активності та експресії білка Mn-супероксиддисмутази до контрольних показників. Про підвищення рівня антиперекисного захисту мітохондрій свідчить зростання активності та експресії білка глутатіонпероксидази.

Таким чином, застосування Капікору за умов моделювання ХП призводить до зниження ротенон-індукованого пошкодження мітохондрій мозку щурів за рахунок посилення дії протективних білків ендогенного антиоксидантного захисту та послаблення процесу окисної модифікації мітохондріальних протеїнів.

Ключові слова: Капікор, ротенон, мозок, мітохондрії, окисний стрес, протективні мітохондріальні білки

О. А. Гончар, Л. В. Братусь, И. Н. Карабань, И. Н. Маньковская
Влияние Капикора на изменения белковых маркеров развития окислительного стресса в митохондриях мозга крыс при моделировании болезни Паркинсона

Исследовали влияние препарата Капикор (комбинация гамма-бутиробетаин дигидрата и мелдония дигидрата) на белковые маркеры про- и антиоксидантной системы митохондрий мозга крыс при rotenone-токсической модели болезни Паркинсона (БП).

Цель исследования – изучить эффективность использования препарата Капикор для коррекции изменений белковых компонентов про- и антиоксидантной системы митохондрий мозга крыс при моделировании БП rotenoneм.

Было показано, что внутривнутрибрюшинное введение Капикора (50 мг/кг) ежедневно в течение 14 дней повышало активность фермента НАДН-дегидрогеназы (комплекс I дыхательной цепи митохондрий) и митохондриальной аконитазы, уменьшало содержание продуктов окислительной модификации белков, что свидетельствует о снижении интенсивности окислительных процессов. Эти изменения происходили на фоне увеличения количества восстановленного глутатиона, нормализации активности и экспрессии белка MnСОD. О повышении уровня антиперекисной защиты свидетельствует рост активности и экспрессии белка глутатионпероксидазы.

Таким образом, применение Капикора в условиях моделирования БП способствовало снижению rotenone-индуцированного повреждения митохондрий за счет усиления действия протективных белков эндогенной антиоксидантной защиты и ослабления процесса окислительной модификации митохондриальных протеинов.

Ключевые слова: Капикор, rotenone, мозг, митохондрии, окислительный стресс, протективные митохондриальные белки

O. O. Gonchar, L. V. Bratus, I. M. Karaban, I. M. Mankovska
The effect of Capicor on the protein markers of oxidative stress development in rat brain mitochondria under modeling of Parkinson's disease

The effects of Capicor (containing Meldonium dihydrate and gamma-butyrobetain dihydrate) on the protein markers of pro- and antioxidant system in rat brain mitochondria under modeling of Parkinson's disease (PD) by rotenone administration were studied.

Wistar rats were divided into groups of 6 in each: I – intact rats (control); II – rotenone was injected subcutaneously at dose 3 mg/kg per day along 2 weeks; III – after rotenone intoxication, Capicor was injected intraperitoneally at dose 50 mg/kg per day along 2 weeks; IV- V - groups served as two additional controls for rotenone and Capicor solvents. In the suspension of brain mitochondria, the activity of NADH dehydrogenase (complex I of the mitochondrial respiratory chain), content of the products of protein oxidative modification, the activity of mitochondrial aconitase, the reduced glutathione amount, activity and protein expression of MnSOD and glutathione peroxidase were measured.

Treatment of rats with Capicor led to a weakening of oxidative processes in brain mitochondria in comparison with rotenone intoxication. It was shown that intraperitoneal injections of Capicor led to a decrease in the oxidative modified proteins content in brain mitochondria under PD modeling. It was also registered an increase in the activities of NADH-dehydrogenase (complex I of the mitochondrial respiratory chain) and mitochondrial aconitase. Such changes indicated a weakening of the mitochondrial oxidative processes intensity. Treatment of rats with Capicor promoted an increase in the reduced glutathione amount as well as normalization of activity and protein expression of MnSOD. When treated with Capicor, there were also registered an increased activity and protein expression of glutathione peroxidase indicating a rise of antiperoxide protection.

So, Capicor reduced rotenone-induced damage of rat brain mitochondria increasing the action of protective proteins of endogenous antioxidant defense against a background of the oxidative modification of mitochondrial proteins weakening.

Key words: Capicor, rotenone, brain, mitochondria, oxidative stress, protective mitochondrial proteins

Надійшла: 7 вересня 2020 р.

Прийнята до друку: 2 грудня 2020 р.

Контактна особа: Гончар Ольга Олександрівна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, відділ гіпоксії, Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАНУ, буд. 4, вул. Академіка Богомольця, м. Київ, 01601. Тел.: + 38 0 44 256 24 92. Електронна пошта: olga.gonchar@i.ua