

11. Цейликман О. Б., Сибиряк С. В., Цейликман В. Э. и др. Активация апоптоза как механизм развития инволюции вилочковой железы при повторных иммобилизациях // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2005. – 139, № 1. – С. 38–39.
12. Кожс Т. Стресс. – Москва: Медицина, 1981. – 213 с.
13. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса. – Новосибирск: Наука, 1983. – 232 с.

Київський національний університет  
ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 26.06.2006

УДК 576.311.347+576.385.5

© 2007

М. М. Марченко, Г. П. Копильчук, О. М. Волощук

## Функціональний стан мітохондріальних мембран печінки попередньо опроміненних щурів з трансплантованою карциномою Герена

(Представлено академіком НАН України М. Є. Кучеренком)

*The ATP-ase activity and swelling intensity of mitochondria are determined in livers of rats with tumor and preliminarily irradiated rats with tumor. It is shown that, at the initial stages of oncogenesis under low doses of the preliminary irradiation, the main factor of changes in the permeability of liver mitochondrial membranes and the ATP-ase activity in rats with tumor is the radiation influence. At the terminal stages, the main factor is the neoplasm influence.*

Іонізуюча радіація та онкогенез призводять до деструктивних змін мембран мітохондрій [1, 2]. При цьому порушується спряження біологічного окиснення і фосфорилювання, знижується  $\Delta\mu H^+$  та інгібується біосинтез АТФ, що призводить до переключення АТФ-синтази на АТФазну активність [3, 4].

У даному повідомленні наведено результати вивчення впливу малих доз радіації та пухлинного росту на функціональний стан мітохондріальних мембран печінки як основного гомеостатичного органу щурів-пухлиноносіїв у динаміці розвитку карциноми Герена за умов попереднього фракціонованого рентгенівського опромінення. Функціональний стан мітохондріальних мембран визначали за зміною їх проникності, яку реєстрували за високоамплітудним набуханням мітохондрій, та  $H^+$ -АТФазною активністю.

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 110–130 г. Тварини були поділені на групи: I — інтактні тварини (К); II — опромінені щури (Р); III — опромінені щури, яким на 1-шу добу після припинення опромінення трансплантували карциному Герена (Р + П). Опромінення проводили протягом семи діб щодобово в дозі  $36,12 \cdot 10^{-4}$  Кл/кг (13 сГр) на рентгенівській діагностичній установці 12П6 ("Lachema", Чехія) при потужності дози  $2,58 \cdot 10^{-4}$  Кл/кг (0,93 сГр/с), напрузі 80 кВ, силі струму 40 мА, шкірно-фокусній відстані 40 см з використанням фільтрів 0,5 мм Си. На 1-шу добу після припинення опромінення проводили трансплантацію карциноми Герена.

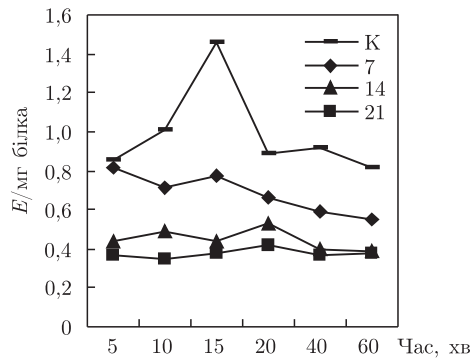


Рис. 1. Набухання мітохондрій печінки щурів-пухлиноносців у динаміці розвитку карциноми Герена: К — інтактні тварини; 7, 14, 21 — термін після трансплантації, доба

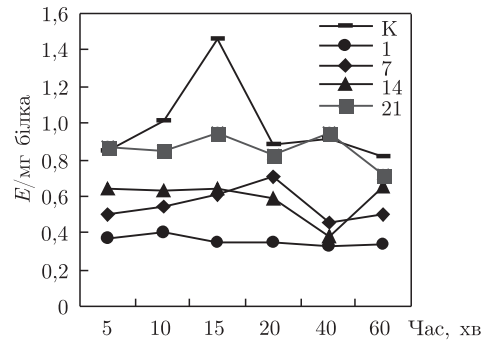


Рис. 2. Набухання мітохондрій печінки попередньо опроміненних щурів: К — інтактні тварини; 1, 7, 14, 21 — термін після припинення опромінення, доба

Тривалість експерименту становила 21 добу. Евтаназію проводили на 7-му (латентна стадія пухлинного росту), 14-ту (логарифмічна стадія пухлинного росту), 21-шу (термінальна стадія пухлинного росту) добу після імплантації пухлини під легким ефірним наркозом.

Виділення мітохондрій з тканини печінки та карциноми Герена щурів здійснювали методом диференційного центрифугування [5]. При вивченні кінетики набухання реєстрували оптичну густина суспензії мітохондрій на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 520 нм [6].

$H^+$ -АТФазну активність реєстрували за накопиченням неорганічного фосфору і виражали в нмоль  $P_i$  на 1 мг білка [7]. Вміст білка визначали за Лоурі.

Статистичну обробку даних проводили з використанням критерію Стюдента.

Результати проведених досліджень показали, що розвиток трансплантованої карциноми Герена в організмі тварин зумовлює втрату здатності мітохондрій печінки до регулювання свого об'єму вже на 7-му добу пухлинного росту порівняно з інтактними тваринами, що виявляється у зниженні показника світлопоглинання (рис. 1). Підвищення проникності мітохондріальних мембран на латентній стадії розвитку новоутворення супроводжується зростанням  $H^+$ -АТФазної активності на 30%. Оскільки набухання мітохондрій супроводжується їх деполаризацією [8–10], то в досліджуваних умовах активація  $H^+$ -АТФази може бути направлена на підтримку електрохімічного потенціалу за рахунок гідролізу АТФ. Подальший ріст новоутворення в організмі пухлиноносця супроводжується посиленням інтенсивності набухання мітохондрій печінки на фоні зниження  $H^+$ -АТФазної активності у 1,5 раза.

У той же час попереднє фракціоноване опромінення тварин призводить до інтенсифікації процесів набухання мітохондрій печінки порівняно з контролем уже на початкових етапах експерименту, максимальний рівень якого фіксується на 1-шу добу після зняття радіаційного чинника (рис. 2). У цей період мітохондрії печінки опроміненних тварин втрачають здатність регулювати свій об'єм, що може свідчити про зміни не лише зовнішньої, а й внутрішньої мембрани. Відмічене зростання проникності мітохондріальних мембран у цей період супроводжується підвищенням  $H^+$ -АТФазної активності у 2 рази порівняно з контролем. У міру віддалення від терміну опромінення спостерігається тенденція до відновлення як вихідного об'єму мітохондрій печінки опроміненних тварин, так і до вихідного рівня  $H^+$ -АТФазної активності, і на 21-шу добу експерименту об'єм і досліджувана ферментативна активність цих органел наближається до показників контролю.

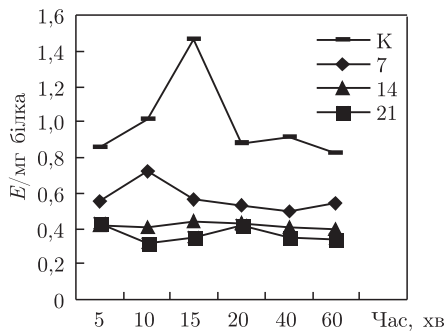


Рис. 3. Набухання мітохондрій печінки попередньо опроміненних щурів-пухлиноносіїв: К — інтактні тварини; 7, 14, 21 — термін після трансплантації пухлини, доба

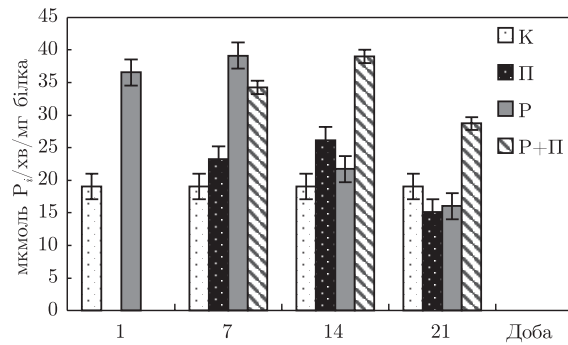


Рис. 4. H<sup>+</sup>-АТФазна активність мітохондрій печінки щурів: К — інтактні тварини; П — пухлиноносії; Р — опромінені тварини; Р+П — попередньо опромінені пухлиноносії

При вивченні закономірностей впливу на організм двох факторів різної природи — пухлинного росту на фоні попереднього фракціонованого рентгенівського опромінення малими дозами виявилось, що достовірні відмінності між опроміненними та неопроміненними пухлиноносіями щодо процесів набухання мітохондрій печінки мають місце лише в латентній фазі розвитку новоутворення (рис. 3). У цей період початковий об'єм мітохондрій збільшується приблизно в 1,5 раза, про що свідчить зниження інтенсивності світлопоглинання мітохондріями.

Відображенням часткового відновлення функціональної активності мітохондрій, що полягає у здатності до скорочення, інтенсивність якого порівняно з інтактними тваринами в 2 рази менша, може бути поява піка на графіку (рис. 4).

Карцинома Герена, трансплантована щурам на фоні опромінення, є додатковим стресовим фактором і призводить до посилення (приблизно в 1,5 раза) високоамплітудного набухання мітохондрій печінки лише на термінальних етапах експерименту. Пухлинний ріст на фоні попереднього рентгенівського опромінення супроводжується зростанням H<sup>+</sup>-АТФазної активності, максимальний рівень якої фіксується на логарифмічній стадії розвитку новоутворення, з тенденцією до гальмування досліджуваної ферментативної активності на подальших етапах експерименту.

Отже, на початкових етапах розвитку карциноми Герена спостерігається зростання проникності мембран печінки попередньо опроміненних щурів-пухлиноносіїв на фоні компенсаторної активації H<sup>+</sup>-АТФази, тоді як на термінальних етапах подальше посилення проникності мембран супроводжується гальмуванням H<sup>+</sup>-АТФазної активності. Визначальним фактором зміни проникності мембран та H<sup>+</sup>-АТФазної активності мітохондрій на початкових стадіях експерименту є вплив іонізуючого опромінення, тоді як на термінальних стадіях — вплив неоплазми.

1. Миронова Н. Г., Древаль В. И., Сичевская Л. В., Загородняя Е. В. Структурно-функциональное состояние митохондриальных мембран печени облученных крыс // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2000. — 40, № 2. — С. 138–141.
2. Лю Б. Н. Кислородно-перекисная концепция апоптоза и возможные варианты его механизма // Успехи современной биологии. — 2001. — 121, № 5. — С. 488–501.
3. Bernardes C. F., Fagain M. M., Meyer-Fernandes J. R. et al. Suramin inhibits and induces membrane permeability transition in isolated rat liver mitochondria // Toxicology. — 2001. — 169. — Р. 17–23.
4. Литошенко А. Я. АТФ-синтаза — внутриклеточная молекулярная турбина // Укр. біохім. журн. — 2001. — 73, № 5. — С. 8–16.

5. *Акопова О. В., Сагач В. Ф.* Индукция открытия митохондриальной поры под действием  $\text{Ca}^{2+}$  в миокарде крыс // Укр. біохім. журн. – 2004. – **76**, № 1. – С. 48–55.
6. *Brookes P. S., Salinas E. P., Darley-Usmar K. et al.* Concentration-dependent effect of nitric oxide on mitochondrial permeability transition and cytochrome C release // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**. – P. 20474–20479.
7. *Губський Ю. И.* АТР-азная активность митохондрий печени крыс при остром отравлении тетрахлоэтаном // Укр. біохім. журн. – 1982. – **54**, № 1. – С. 46–50.
8. *Сагач В. Ф., Вавилова Г. Л., Рудик О. В., Струтинська Н. А.* Вивільнення неідентифікованих речовин мітохондріального походження – показник відкриття мітохондріальної пори серця щурів // Фізіол. журн. – 2003. – **49**, № 5. – С. 3–12.
9. *Bernardi P., Vassaneli S., Veronese P. et al.* Modulation of the mitochondrial cyclosporin A – sensitive permeability transition pore // J. Biol. Chem. – 1993. – **268**. – P. 1005–1010.
10. *Halestrap A. P., McStay G. P., Clane S. J.* The permeability transition pore complex: another view // Biochem. – 2002. – **84**. – P. 153–166.

Чернівецький національний університет  
ім. Юрія Федьковича

Надійшло до редакції 27.06.2006