

ISSN: 2545-0573

## ВЛИЯНИЕ УЗИ НА АКТИВНОСТЬ СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПЕЧЕНИ КРЫС И ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ

**Бабаханова Д. Б.**

*PhD докторант Чирчикского государственного педагогического института Ташкентской области*

**Мирхамидова П**

*Док.биол.наук. профессор кафедры Ботаника и экология Ташкентский государственный педагогический университет, город Ташкент*

**Алимова Р**

*Кандидат биологических наук, доцент Ташкентского Государственного аграрного университета, город Ташкент*

### ARTICLE INFO.

**Ключевые слова:**

Гепатоцит, митохондрии, сукцинатдегидрогеназа, экстракт, биосеп, ультразвук.

### Аннотация

Полученные данные свидетельствует о нарушении активности фермента сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени крыс под действием ультразвука. Резкое снижение активности фермента сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени этой группы крыс по сравнению с контролем было выявлено на 1-е и 3-е сутки после воздействия ультразвуком, т. е.  $37,8 \pm 1,5\%$  и  $34,57 \pm 2,3\%$ , соответственно. Выявлено, что эффекты коррекции экстракта шотута было более эффективным, чем масляного экстракта биосепа.

<http://www.gospodarkainnowacje.pl/> © 2022 LWAB.

**Актуальность темы:** Сукцинатдегидрогеназа – широко распространена в растительных и животных клетках, локализована во внутренней мембране митохондрий является один из ключевых ферментов энергетического обмена [1, с 10-15; 2, с 12-14; 3, с 514-519].

Фермент сукцинатдегидрогеназа катализирует окисление сукцината до фумарата в цикле Кребса [4, 1205-1208], а полученные электроны поступают в дыхательный комплекс III для восстановления кислорода и образования воды [5, с 22-28].

Таким образом, СДГ участвует как в реакциях цикла Кребса, так и в транспорте электронов в составе сукцинат: убихинон-оксидоредуктазы (комплекс-са II) митохондриальной дыхательной цепи, по-этому, изменяя ее активность воздействием различных химических агентов, можно регулировать процессы клеточного дыхания и энергетического метаболизма [6, с 41-45].

Известно, что ультразвуковое исследование широко используется в биологии и медицине [7, с 4-17]. Однако, воздействие ультразвука на организм человека и животных мало изучено. В настоящее время накоплен значительный материал о биологическом действии ультразвука, однако это результаты экспериментальных исследований и наблюдений за воздействием ультразвука в терапевтических целях [8, с 57-60].

В работе изучались эффекты коррекции действия экстракта шотут и масляных экстрактов биосепа на активность сукцинатдегидрогеназы печени у крыс после воздействия ультразвуковыми волнами частотой 7,5 МГц в течение 5 мин с помощью аппарата Mindrey DP-50 Vet UZI.

**Цель исследования:** изучение влияния ультразвука на активность сукцинатдегидрогеназы митохондрий печени крыс

**Методы исследования и материалы.** Исследование проводили на стерильных лабораторных белых крысах-самках массой 150–220 г. В исследовании использовали прибор Mindrey DP-50 Vet UZI для животных при воздействии на крыс при частоте 7,5 МГц в течение 5 мин.

В экспериментах крыс разделили на отдельные модельные группы с воздействия УЗИ и их коррекции:

I группа здоровые (контроль) (n = 5)

II группа 5 минутное воздействие УЗИ (n = 5-6).

III группа УЗИ + экстракт шотута (n = 5-6)

IV группа УЗИ + биосеп (n = 5-6)

В эксперименте крысам III группы через 5 мин ультразвука вводили по 1 мл экстракта шотута один раз в сутки в течение 5 дней по отношению к массе тела, а крысам IV группы перорально вводили по 1 мл биосепа в течение 5 дней.

Активность митохондриальных ферментов их печени изучали через 1, 3, 5, 10 и 15 дней после введения крысам, подвергшимся УЗИ, экстрактов шотута и биосепа.

Митохондрии печени крыс изолировали дифференциальным центрифугированием предложенной W.C.Schneider [9, с 619-635] и модификационным методом Кузмина и соавторов [10, с 1684-1697]. Активность фермента сукцинатдегидрогеназы определяли на UV/VIS спектрофотометре в диапазоне 540 нм [11, с 13]. Для выделения митохондрий из ткани печени использовали 0,25 М буферный раствор сахароза-ТКМ. Гомогенат ткани готовили в соотношении 1:10 и центрифугировали 10 минут при 1000 об/мин, осаждаются ядра. После отделения ядер супернатант центрифугировали при 10 000 G течении 10 минут. Полученный осадок(неочищенная фракция митохондрий) суспензировали 0,25 М растворе сахарозы на буфере ТКМ и центрифугировали в тех же условиях. Такое промывание митохондриальной фракции повторяли ещё два раза. Осадок митохондрий суспендировали в 0,25 М сахарозе на ТКМ буфере и использовали в опытах.

Метод определения активности данного фермента основан на восстановлении солей тетразолия при ферментативном переносе  $H^+$  от субстрата на соли тетразолия через ФАД<sup>+</sup>- фермента. Особенностью тетразолия является его способность легко восстанавливаться, образуя ярко окрашенные, растворимые в воде, но нерастворимые в ацетоне соединения – формазаны. Для определения активности фермента приготовили инкубационную среду следующего состава: 0,2 мл 0,2 М раствора хлорида магния, 0,2 мл раствора АТФ, 0,4 мл фосфатного буфера (рН 8,0). К 0,8 мл среды инкубации добавляли 0,2 мл суспензии митохондрий, полученной как описано выше. Инкубировали систему 10 мин при 37 °С. Запустили реакцию добавлением 0,1 мл раствора сукцината натрия. Добавили 0,4 мл 0,1% раствора нитротетразолиевого синего и

инкубировали пробы 30 мин при 37 °С.

Реакцию останавливали добавлением 3,5 мл ацетона. Осадок удаляли центрифугированием при 3000 об/мин 10 мин и измеряли величину оптической плотности раствора при 540 нм.

Активность фермента сукцинатдегидрогеназы выражается в нмоль/мин на 1 мг белка [11, с 13]. Количество белка в митохондриях определяли методом Лоури [12, с 265-275]. Разницу между результатами, полученными в группах контроля, УЗИ и УЗИ + шотут, УЗИ + биосеп, рассчитывали по t-критерию, где значение  $P < 0,05$  представляет собой статистическую достоверность.

**Полученные результаты и их анализ:** По результатам исследования, при воздействии УЗИ на печень крыс в диапазоне 7,5 мГц с помощью аппарата Mindrey DP-50 Vet UZI в течении 5-минут активность фермента сукцинатдегидрогеназы в митохондриях гепатоцитов на 1, 3, 5, 10 и 15 дни по сравнению с контрольными группами соответственно составило  $37,8 \pm 1,5\%$ ,  $34,57 \pm 2,3\%$ ,  $25,5 \pm 3,2\%$ ,  $16,7 \pm 1,6\%$ ,  $8,6 \pm 1,1\%$  (таб.1).

**Таблица 1. Влияние экстрактов шотут и биосеп на активность сукцинатдегидрогеназы при воздействии ультразвука на митохондрий гепатоцитов крыс (1, 3, 5, 10 и 15-дневная динамика) (нмоль/мин 1 мг белка) (\* $P < 0,05$ , n=5-6)**

№	Группа опыта	n	1-дневные	3- дневные	5- дневные	10-дневные	15- дневные
I	Контроль	5	$9.98 \pm 0.055$	$10.04 \pm 0.026$	$9.98 \pm 0.019$	$9.9 \pm 0.011$	$10.03 \pm 0.011$
II	УЗИ	6	$6.21 \pm 0.014^*$	$6.58 \pm 0.023^*$	$7.14 \pm 0.015^*$	$8.25 \pm 0.022^*$	$9.17 \pm 0.016^*$
III	УЗИ+шотут	5	$7.21 \pm 0.024^*$	$7.67 \pm 0.016^*$	$8.03 \pm 0.016^*$	$8.72 \pm 0.020^*$	$9.64 \pm 0.047^*$
IV	УЗИ+биосеп	5	$6.83 \pm 0.032^*$	$7.35 \pm 0.01^*3$	$7.93 \pm 0.028^*$	$8.49 \pm 0.041^*$	$9.46 \pm 0.026^*$

Полученные данные свидетельствует о нарушении активности фермента сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени крыс под действием ультразвука (табл.1). Резкое снижение активности фермента сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени этой группы крыс по сравнению с контролем было выявлено на 1-е и 3-е сутки после воздействия ультразвуком, т. е  $37,8 \pm 1,5\%$  и  $34,57 \pm 2,3\%$ , соответственно.

Обнаружено достоверное влияние коррекции экстракта шотут на активность фермента сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени крыс III группы (таб.1). В 1, 3, 5, 10, 15 сутки его активность составила  $10 \pm 0,8\%$ ,  $10,9 \pm 0,9\%$ ,  $8,9 \pm 0,9\%$ ,  $4,8 \pm 0,4\%$  и  $4,7 \pm 1,1\%$  соответственно по сравнению со II группой. Ферментативная активность в митохондриях гепатоцитов этой группы крыс достоверно восстанавливалась к 10 и 15-м суткам (рис.1).

Активность фермента сукцинатдегидрогеназы в митохондриях гепатоцитов крыс IV группы, коррекцию которых проводили с экстрактом биосепа, составила  $6,2 \pm 0,4\%$ ,  $7,7 \pm 0,5\%$ ,  $7,9 \pm 0,6\%$ ,  $2,4 \pm 0,3\%$ ,  $2,9 \pm 0,2\%$  соответственно по сравнению с группой II (рис.1).

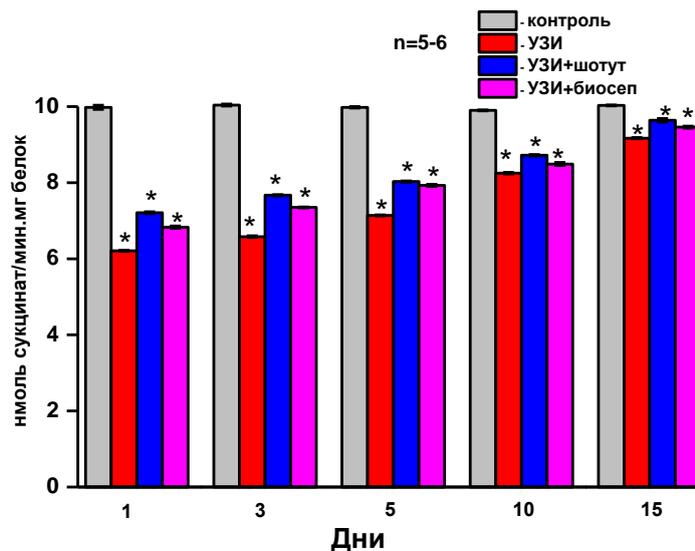


Рис.1. Влияние экстрактов шотут и биосеп на активность сукцинатдегидрогеназы при воздействии ультразвука на митохондрий гепатоцитов крыс (1, 3, 5, 10 и 15-дневная динамика) (нмоль/мин 1 мг белка) (\* $P < 0,05$ ,  $n=5-6$ )

Полученные результаты показывают, что резкое снижение активности фермента сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени у крыс наблюдалось на 1-е и 3-е сутки после воздействия ультразвуком в течение 5 мин. Глубокое ингибирование фермента наблюдалось на 1-е и 3-е сутки после воздействия УЗИ, что в свою очередь приводило к нарушению мембранных структур и изменению процессов перекисного окисления липидов в митохондриях печени крыс. В экспериментах наблюдалась определенная степень восстановления активности фермента сукцинатдегидрогеназы в митохондриях печени групп крыс, коррекция которых проводилась с экстрактом шотута и масляным экстрактом биосепа.

Выявлено, что эффекты коррекции экстракта шотута было более эффективным, чем масляного экстракта биосепа.

#### Список литературы:

1. Фермент сукцинатдегидрогеназа (SDH) и его роль при наследственных аденомах гипофиза / Ю.В. Панкратова [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2013. – № 4. – С. 10-15.
2. Bersang A.B., Bube S., Fode M., Azawi N.H. Hand-assisted laparoscopic partial nephrectomy for large renal carcinoma with succinate dehydrogenase deficiency // Journal of endourology case reports. – 2018. – Vol. 4 (1). – P. 12–14.
3. Miettinen M., Lasota J. Succinate dehydrogenase deficient gastrointestinal stromal tumors (GISTs) – A review // J. Biochem. Cell. Biol. – 2014. – P. 514-519.
4. Алисултанова Н.Ж., Вахнина Н.А., Шадрин В.Д., Сидорова Л.П., Бойко Е.Р., Чупахин О.Н. Изменение активности сукцинатдегидрогеназы митохондрий печени крыс под воздействием соединений класса 1,3,4-тиадиазина в условиях *in vitro* // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, том 16, №5(4), 2014. Стр.1205-1208.
5. Егорова М.В. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы // Сибирский медицинский журнал. 2011. Т. 26. № 1. С. 22-28.

6. Brooks, P.S. A shortcut to mitochondrial signaling and pathology: A commentary on “Nonenzymatic formation of succinate in mitochondria under oxidative stress” / P.S. Brooks, R.S. Freeman, M.C. Barone // *Free Radical Biology and Medicine*. 2006. V. 41. P. 41-45
7. Каркищенко Н.Н., Чайванов Д.Б., Варганов А.А. Об эффективности и безопасности ультразвуковой транскраниальной стимуляции головного мозга человека.-М.: Биомедицинский журнал, 2011, № 2, стр. 4-17
8. Суворова Н. Б. Некоторые аспекты влияния ультразвуковой диагностической аппаратуры на организм врача. *Экология человека* 2005. 9 -57-60 с
9. Schneider W.C., Hageboom G.H., Pallade G.E. Cytochemical studies of mammalian tissues; isolation of intact mitochondria from rat liver; some biochemical properties of mitochondria and submicroscopic particulate material // *J. Biol. Chem.* – 1948. – V. 172 (2). – P.619-635.
10. Кузмина С.Н., Карандашвиле Ф.А, Бульдеяева Т.В./ Цитохромоксидаза ядерных оболочек печени крыс и её взаимоотношение в митохондриальной цитохромоксидазой// *Биохимия.* – 1976. – Т.41.-с.1684-1697.
11. Губич О. И., Мохорева С. И.. **Биоэнергетика**: методическое пособие к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов. – Минск: БГУ, 2010. С 13
12. Lowry N., Rosenbrouch H.G., Farr A.L., Randall R. Protein measurement with the folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1975. – V.193(№1) – P. 265-275.