

УДК 576.311:577.352.38
©Заводник

ДИСФУНКЦИЯ МИТОХОНДРИЙ И КОМПЕНСАТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ КРЫС ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

И.Б. Заводник

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы,
Беларусь, 230030, Гродно, бульвар Ленинского комсомола, 50;
тел. +375(152)484583; факс +375(152)434121; эл. почта: zavodnik_il@mail.ru

Электрон-транспортная цепь и редокс-баланс митохондрий клеток печени представляют собой одну из наиболее чувствительных мишеней, повреждаемых при токсическом воздействии. Цель настоящей работы – оценить роль нарушений биоэнергетической функции клеток в развитии поражения печени при острой интоксикации крыс тетрахлорметаном и выяснить возможные компенсаторные механизмы, действующие в митохондриях и клетках печени при токсическом воздействии. Острая интоксикация крыс CCl_4 (4 г/кг и 0,8 г/кг) приводила к выраженным нарушениям респираторной и синтетической функций митохондрий. По мере увеличения дозы токсического агента и длительности его действия происходило полное разобщение процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях клеток печени, накопление NO в плазме крови и клетках печени. При этом большую чувствительность проявляли компоненты комплекса I дыхательной цепи. Изменения ряда параметров, характеризующих функциональную активность митохондрий и клеток печени носят колебательный характер, отражая развитие компенсаторных механизмов при интоксикации, которые заключаются в увеличении содержания восстановленного глутатиона, повышении активности сукцинатдегидрогеназы.

Ключевые слова: митохондрии, печень, интоксикация, респираторная активность, адаптация

DOI: 10.18097/PBMC20156106731

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время отмечается возрастающий рост воспалительно-дегенеративных заболеваний печени (стеатогепатозы, фиброз/цирроз), представляющих серьезную медицинскую и социальную проблему. Печень особенно чувствительна к токсическим воздействиям, благодаря центральной роли в метаболизме ксенобиотиков и портальной локализации. Тетрахлорметан (CCl_4) – известный гепатотоксический агент – широко используется для моделирования острых и хронических поражений печени у животных [1, 2]. Механизмы гепатотоксического действия галогеналканов, в том числе CCl_4 , хорошо известны и связаны с центрлобулярным некрозом, инфильтрацией печени провоспалительными клетками, жировой дистрофией, апоптозом клеток печени [1-4]. Митохондрии, наряду с эндоплазматическим ретикуломом, способны активировать CCl_4 с образованием трихлорметильного радикала CCl_3 , причём восстановительный потенциал CCl_4 позволяет ему конкурировать с кислородом

за восстановительные эквиваленты электрон-транспортной цепи митохондрий [5]. Воспалительный ответ печени при токсическом поражении опосредуется в первую очередь цитокинами, фактором некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкинами, в том числе интерлейкином-1 β (IL-1 β), трансформирующими факторами роста - α и - β (TGF- α и - β), свободными радикалами кислорода, оксидом азота, продуцируемыми активированными провоспалительными клетками [3, 4, 6, 7].

Митохондрии, как известно, играют ключевую роль в координации важнейших клеточных функций, являясь не только источником энергетических эквивалентов, но и мишенью и декодером внутриклеточных сигналов, генератором вторичных мессенджеров и проапоптотических факторов [8]. Предполагают, что дисфункция митохондрий представляет начальный этап проявлений гепатотоксичности, неизбежно приводя к апоптотической или некротической гибели клетки, а сами митохондрии служат первичной мишенью токсинов [9]. Уже в первых работах,

посвящённых исследованию биохимических механизмов токсического поражения CCl_4 , доказана важная роль митохондриальных повреждений в развитии гепатотоксичности [10, 11]. Между структурными изменениями митохондрий (6-12 ч) и функциональными нарушениями (12 и 24 ч) наблюдается определённый лаг-период [10]. Показано участие процессов формирования пор высокой проницаемости в митохондриях, высвобождения цитохрома c , активации каспазы-3, нарушения экспрессии белков Bcl-X(L), Bax, Bcl-2, PARP, Bax, Bid в гепатотоксических эффектах CCl_4 [12, 13]. В предыдущих работах нами были охарактеризованы индуцированные CCl_4 нарушения ультраструктуры митохондрий и морфологии клеток печени, лейкоцитарная инфильтрация, ингибирование митохондриальных ферментов (в том числе ферментов электрон-транспортной цепи и антиоксидантной защиты), модификация белков митохондрий, а также активация перекисного окисления липидов [14-17].

Цель настоящей работы – определить роль нарушений биоэнергетической функции клеток печени в развитии поражения печени при острой интоксикации крыс тетрахлорметаном и выяснить возможные компенсаторные механизмы, действующие в митохондриях и клетках печени при токсическом воздействии.

МЕТОДИКА

Реактивы

В работе использовали: тетрахлорметан (CCl_4), динатриевую соль янтарной кислоты (сукцинат), натриевую соль L-глутаминовой кислоты (L-глутамат), сахарозу, трис(гидроксиметил)аминометан (Трис-HCl), этилендиаминтетраацетат (ЭДТА), аденозиндифосфат (ADP), 2,6-дихлорофенол-индофенол (ДХИФ), 5,5'-дитиобис(2-нитробензойную кислоту) (реактив Элмана), трихлоруксусную кислоту (ТХУ), восстановленную форму глутатиона (GSH), тиобарбитуровую кислоту (ТБК), ("Sigma-Aldrich", США или Германия).

Экспериментальное моделирование острого токсического поражения печени крыс тетрахлорметаном

Эксперименты были выполнены на крысах-самцах массой 200-250 г линии Wistar вивария Института биохимии НАН Беларуси. Животные содержались на стандартном рационе вивария, имели свободный доступ к пище и воде и были адаптированы к 12-часовому циклу смены световой (с 8 ч) и темновой (с 20 ч) фаз суток. При работе с животными соблюдали правила Европейской конвенции по защите животных, используемых в научных целях, и рекомендации Комиссии по этике Института биохимии НАН Беларуси. При остром воздействии CCl_4 вводили в 9 ч однократно внутривенно (в/ж) с помощью зонда в дозе 0,8 г/кг или 4 г/кг (50 % раствор

в оливковом масле). В каждой экспериментальной группе было по 10 животных. Животных декапитировали через 12 или 24 ч после введения четырёххлористого углерода.

Оценка респираторной активности митохондрий

Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования [18] в охлаждённой среде, содержащей 0,25 М сахарозу, 0,02 М трис-HCl и 0,001 М ЭДТА, pH 7,2, при 4°C. Митохондриальное дыхание регистрировали полярографически, используя изготовленный в нашей лаборатории электрод Кларка, встроенный в термостатируемую герметическую ячейку объёмом 1,25 мл при 25°C [19]. Суспензию митохондрий (1 мг белка/мл) вносили в ячейку со средой (0,05 М сахароза, 0,01 М Трис-HCl, 0,125 М KCl, 2,5 мМ KH_2PO_4 , 5 мМ MgSO_4 , 0,5 мМ ЭДТА, pH 7,5), затем вводили субстраты дыхания (сукцинат – 5 мМ либо L-глутамат – 5 мМ + малат – 2 мМ) и ADP (180 мкМ). Скорость дыхания митохондрий рассчитывали в различных метаболических состояниях: V_2 – скорость субстрат-стимулируемого дыхания, V_3 – скорость ADP-стимулируемого дыхания (в присутствии субстрата и ADP), V_4 – скорость дыхания после расходования внесённого ADP. Для характеристики сопряжения, окисления и фосфорилирования рассчитывали: коэффициент акцепторного контроля ($\text{AK} = V_3/V_2$), коэффициент дыхательного контроля ($\text{ДК} = V_3/V_4$) и коэффициент фосфорилирования (ADP/O). Скорости дыхания митохондрий в различных метаболических состояниях выражали в нг-атомах кислорода, потребляемого за 1 мин в расчёте на 1 мг белка митохондрий.

Биохимические измерения

Содержание восстановленного глутатиона (GSH) в суспензии изолированных митохондрий определяли по методу Элмана [20]. Определение содержания смешанных дисульфидов глутатиона с белками (GSSP) осуществляли по методу Rossi и др. [21]. Концентрацию стабильных продуктов перекисного окисления липидов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), в митохондриях определяли спектрофотометрически по методу, описанному Stocks and Dormandy [22]. Определение активности глутатионпероксидазы (GPx) проводили по скорости окисления GSH по методу Martinez и др. [23]. Активность глутатионтрансферазы (GST) в митохондриях и цитоплазме клеток печени измеряли по методу Habig и соавт. [24] по скорости образования конъюгатов глутатиона. Определение активности каталазы в цитоплазме клеток печени крыс осуществляли спектрофотометрически по методу Aebi [25]. Содержание NO (как суммарное содержание нитритов и нитратов) в плазме крови и цитоплазме клеток печени проводили с использованием реагента Грисса [26]. Активности аланинаминотрансферазы (АлТ) и аспаратаминотрансферазы (АсТ), содержание билирубина в гепаринизированной плазме крови крыс определяли с использованием набора

Таблица 1. Активность ферментов печени АлТ и АсТ и содержание билирубина и оксида азота в плазме крови крыс при острой интоксикации CCl_4 (4 г/кг).

| Показатель | Контроль | CCl_4 , 12 ч | CCl_4 , 24 ч |
|---------------------------|------------|-----------------------|-----------------------|
| АлТ, мкмоль/л×с | 0,78±0,09 | 2,00±0,01** | 1,94±0,04** |
| АсТ, мкмоль/л×с | 0,74±0,05 | 1,34±0,02** | 1,39±0,08** |
| общий билирубин, мкмоль/л | 1,95±0,41 | 8,36±0,95** | 15,15±1,99** |
| NO, мкмоль/л | 27,14±3,49 | 34,71±5,32 | 42,07±4,40** |

Примечание: ** - статистически достоверно по отношению к контрольной группе, $p < 0,01$.

реагентов ("Pliva-Lachema", Чехия). Активность ферментов выражали в мкмоль/л×с. Активность сукцинатдегидрогеназы определяли по скорости восстановления 2,6-дихлорфенолиндофенола в митохондриях, разрушенных замораживанием-оттаиванием [27]. Мембранный потенциал митохондрий определяли спектрофлуориметрически ($\lambda_{\text{ex}} = 495$ нм, $\lambda_{\text{em}} = 586$ нм, спектрофлуориметр СМ 2203, "Солар", Беларусь), используя флуоресцентный зонд сафранин О [28]. Содержание белка в митохондриях оценивали по методу Lowry и соавт. [29].

Статистический анализ

Полученные результаты соответствовали закону нормального распределения вариационного ряда и были проанализированы параметрическим методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Результаты представляли как среднее значение 8-10 измерений ± стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общепризнано, что начальные этапы гепатотоксичности связаны с активацией токсических агентов, образованием активных метаболитов, в первую очередь радикальной природы, а также с повреждением митохондрий [30]. Через 12 ч после острой интоксикации CCl_4 (4 г/кг) в плазме крови крыс резко возрастала активность ферментов АлТ и АсТ и концентрация билирубина (табл. 1). Эти изменения сохранялись на том же уровне спустя 24 ч (табл. 1). Одновременно при острой интоксикации CCl_4 через 24 ч мы обнаружили возрастание содержания в плазме крови NO (в 1,6 раза) (табл. 1), что свидетельствует о развитии нитрозативного стресса и сопутствующих воспалительных процессах в организме животных.

Нарушение функционального состояния ткани печени крыс при острой интоксикации тетрахлорметаном коррелировало с изменениями респираторной и синтетической функций митохондрий печени. Интоксикация животных CCl_4 в дозе 0,8 г/кг через 24 ч после воздействия приводила к выраженному энергетическому дефициту в клетках печени, что проявлялось в уменьшении скорости ADP-стимулируемого потребления кислорода V_3 на 55% в случае использования глутамата в качестве

субстрата дыхания (субстрат комплекса I дыхательной цепи), и на 30% в случае использования сукцината (субстрат комплекса II) (табл. 2). Кроме того, мы наблюдали частичное разобщение процессов окисления и фосфорилирования. Коэффициент ДК изменялся в одинаковой степени (на 45%) при использовании обоих субстратов, тогда как коэффициент АК уменьшался в большей степени при использовании глутамата в качестве субстрата дыхания (на 50%), чем при использовании сукцината (на 40%). Коэффициент фосфорилирования при использовании глутамата или сукцината снижался в одинаковой степени на 60% (табл. 2). При этом активность сукцинатдегидрогеназы (комплекс II электрон-транспортной цепи) спустя 24 ч после интоксикации (0,8 г/кг) снижалась на 25% на фоне отсутствия существенных изменений в состоянии антиоксидантной системы митохондрий: уровень GSH, GSSP и активность GPx (основного фермента антиоксидантной защиты митохондрий) не изменялись (данные не представлены).

Увеличение дозы токсического агента (CCl_4 , 4 г/кг) уже через 12 ч приводило к выраженным нарушениям энергетического обмена в митохондриях, которые проявлялись в уменьшении скорости потребления кислорода V_3 (на 30% в случае использования глутамата и на 40% в случае использования сукцината), полном разобщении процессов окисления и фосфорилирования при использовании обоих субстратов дыхания (коэффициенты АК = 1 и ДК = 1), уменьшении коэффициента фосфорилирования (АДФ/О = 0). Через 12 ч и 24 ч после интоксикации скорости потребления кислорода V_2 и V_4 не отличались от контрольных значений при использовании как глутамата, так и сукцината в качестве субстратов дыхания (данные не представлены). Через 24 ч после интоксикации скорость V_3 снижалась на 50% в случае использования глутамата и на 60% в случае использования сукцината, что отражает возрастание степени нарушений респираторной функции во времени (табл. 2, [15]). Величина мембранного потенциала митохондрий при использовании в качестве субстратов сукцината и глутамата спустя 24 ч после интоксикации CCl_4 (4 г/кг) существенно не изменялась, что может свидетельствовать о сохранении протонного барьера митохондрий (табл. 3). Ранее также было показано, что при острой интоксикации крыс CCl_4 (4 г/кг) спустя 24 ч происходило снижение скорости V_3 дыхания митохондрий на 93% при использовании

КОМПЕНСАТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ

Таблица 2. Параметры респираторной активности митохондрий печени крыс при острой интоксикации CCl_4 (0,8 г/кг, 4 г/кг, 24 ч).

| | Параметры | контроль | CCl_4 (0,8 г/кг) | CCl_4 (4 г/кг) |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|---------------------------|-------------------------|
| L-глутамат (5 мМ) | Скорость субстрат-зависимого потребления O_2 , V_2 (нг-ат O_2 / мин / мг белка) | 17,4±3,9 | 15,9±4,7 | 20,5±3,6 |
| | Скорость ADP-стимулируемого потребления O_2 , (нг-ат O_2 / мин / мг белка) | 86,5±15,2 | 39,0±5,6** | 27,5±4,2** |
| | Скорость потребления O_2 после истощения ADP, (нг-ат O_2 / мин / мг белка) | 20,5±2,8 | 17,8±4,6 | 16,6±3,5 |
| | Коэффициенты | АК | 5,26±1,32 | 2,99±1,06* |
| | | ДК | 4,27±0,6 | 2,29±0,72** |
| | | ADP/O | 1,83±0,33 | 0,86±0,42* |
| Сукцинат (5 мМ) | Скорость субстрат-зависимого потребления O_2 , V_2 (нг-ат O_2 / мин / мг белка) | 54,36±28,1 | 51,85±20,5 | 61,9±9,8 |
| | Скорость ADP-стимулируемого потребления O_2 , (нг-ат O_2 / мин / мг белка) | 150,8±19,8 | 103,8±39,7** | 54,8±15,6** |
| | Скорость потребления O_2 после истощения ADP, (нг-ат O_2 / мин / мг белка) | 37,8±10,1 | 48,5±12,6 | 51,8±14,6 |
| | Коэффициенты | АК | 3,68±0,43 | 2,26±0,32** |
| | | ДК | 4,24±0,47 | 2,24±0,42** |
| | | ADP/O | 1,65±0,37 | 0,71±0,34* |

Примечание. Здесь и в таблице 3: * - статистически достоверно по отношению к контрольной группе, $p < 0,05$; ** - статистически достоверно по отношению к контрольной группе, $p < 0,01$.

Таблица 3. Параметры антиоксидантной защиты, активность сукцинатдегидрогеназы и мембранный потенциал митохондрий печени крыс при острой интоксикации CCl_4 (4 г/кг, 24 ч).

| Параметры | Контроль | CCl_4 |
|---------------------------------------------------|-------------|----------------|
| сукцинатдегидрогеназа, нмоль ДХИФ/мин/мг белка | 52,0±8,5 | 33,4±4,2** |
| GSH, нмоль / мг белка | 10,2±1,3 | 7,6±2,3* |
| GSSP, нмоль / мг белка | 0,18±0,01 | 0,24±0,02* |
| глутатионпероксидаза, нмоль GSH/мин/мг белка | 592,0±183,1 | 1116,1±135,6** |
| мембранный потенциал (5 мМ глутамат), мВ | 140,8±25,0 | 125,0±22,9 |
| мембранный потенциал (5 мМ сукцинат), мВ | 170,2±10,7 | 158,8±38,2 |

глутамата и на 65% при использовании сукцината в качестве субстратов дыхания, существенно уменьшались также скорость V_4 , коэффициенты ДК и ADP/O при использовании обоих субстратов, активности NADH-дегидрогеназы (35%) и сукцинатдегидрогеназы (76%), снижался уровень тканевого АТФ с одновременным возрастанием содержания АМР [31].

Через 12 ч после введения CCl_4 (4 г/кг) активность сукцинатдегидрогеназы возрастала на 25% и снижалась на 35% через 24 ч (табл. 3, рис. А). Параллельно наблюдали окислительные повреждения

белков и липидов в клетках печени. Содержание белковых карбонильных групп (продукты окислительной модификации белков) в клетках печени спустя 24 ч после введения CCl_4 было повышено на 60% (данные не представлены), а уровень ТБКРС возрастал на 40% (рис. А). Через 24 ч после введения высокой дозы CCl_4 (4 г/кг) обнаружено снижение уровня восстановленного глутатиона (на 25%) митохондриях, увеличение содержания смешанных дисульфидов глутатиона с белками, GSSP (на 30%) и возрастание активности митохондриальной GPx (на 90%) (табл. 3). Через 12 ч после введения CCl_4 отмечено значительное повышение уровня восстановленного глутатиона в цитоплазме клеток печени крыс (в 2,5 раза), который через 24 ч возвращался к контрольным значениям (рис. Б). Активности ферментов антиоксидантной защиты GPx и GST в цитоплазме клеток печени спустя 12 ч были снижены на 25% и 30%, соответственно, а через 24 ч при той же дозе токсиканта не отличались от контрольных значений (рис. Б). Следует отметить, что активность ферментов метаболизма глутатиона в митохондриях и цитоплазме клеток печени коррелировала с уровнем восстановленного глутатиона, возрастая при его уменьшении и наоборот. Активность одного из основных антиоксидантных ферментов клеток печени – каталазы – не изменялась ни через 12 ч, ни через 24 ч после введения CCl_4 (рис. Б). Содержание NO в ткани печени было повышено на 50% через 12 ч и 24 ч после введения CCl_4 (4 г/кг) (рис. Б), что коррелировало с возрастанием уровня оксида азота в плазме крови.

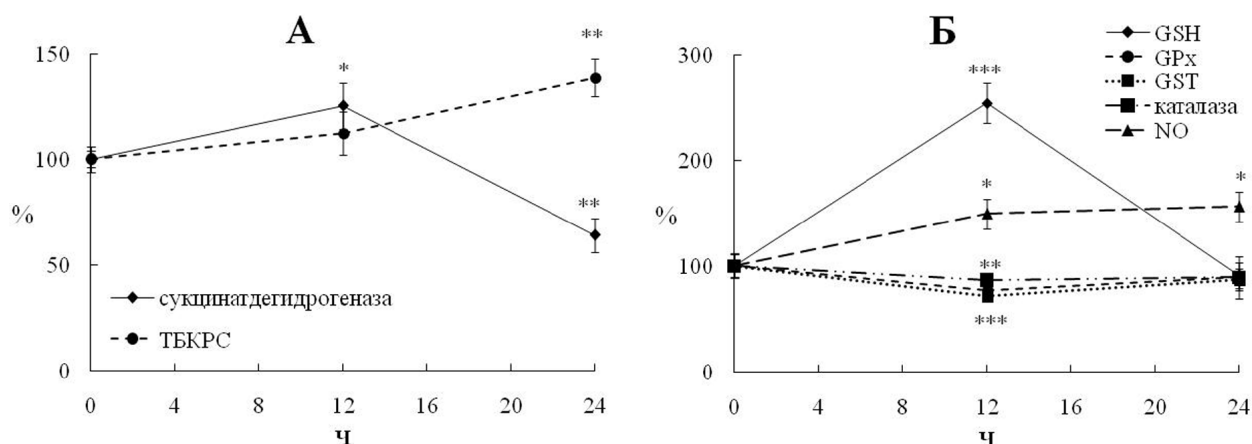


Рисунок. Динамика изменений: (А) активности сукцинатдегидрогеназы и содержания ТБКРС в клетках печени крыс при токсическом воздействии CCl_4 (4 г/кг); (Б) параметров системы антиоксидантной защиты клеток печени крыс при токсическом воздействии CCl_4 (4 г/кг): уровень GSH, NO, активность GPx и GST.

Увеличение уровня глутатиона и снижение активности глутатион-метаболизирующих ферментов, вероятно, обусловлено развивающимся окислительным стрессом [32, 33] и/или повышением уровня NO, который способен влиять на активность ферментов обмена глутатиона [34]. Контролируя уровень генерации свободных радикалов в электрон-транспортной цепи митохондрий, уровень GSH определяет развитие патологических процессов при токсическом воздействии [35, 36]. Ранее возрастание уровня глутатиона в митохондриях печени было обнаружено нами при длительной (30 дней) интоксикации тетрахлорметаном как механизм адаптации митохондрий к длительному окислительному стрессу [17]. Известно, что индукция синтеза GSH, и, соответственно, регуляция редокс-баланса клеток и митохондрий, может быть связана с экспрессией γ -глутамилцистеинсинтазы, регуляция активности фермента представляет одну из наиболее общих адаптационных реакций клетки на истощение GSH, например, в случае окислительного стресса [32-34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, электрон-транспортная цепь митохондрий, редокс-баланс митохондрий и клеток печени представляют собой одну из наиболее чувствительных мишеней, повреждаемых при токсическом воздействии. Острая интоксикация крыс CCl_4 приводила к накоплению NO в плазме крови и клетках печени, к выраженным нарушениям респираторной и синтетической функции митохондрий, возрастающим по мере увеличения дозы токсического агента и длительности после воздействия, свидетельствующим о полном разобщении процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях клеток печени. При этом большую чувствительность проявляли ферменты комплекса I дыхательной цепи. Изменения ряда параметров, характеризующих функциональную активность митохондрий и клеток печени, в первую очередь, уровень GSH,

активность ферментов метаболизма глутатиона, сукцинатдегидрогеназы, носят колебательный характер, отражая развитие компенсаторных механизмов при интоксикации, обеспечивающих метаболическую адаптацию органа к новому состоянию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Weber L.W., Boll M., Stampfl A. (2003) Crit. Rev. Toxicol., **33**, 105-136.
2. Ricote M., Li A.C., Willson T.M., Kelly C.J., Glass C.K. (1998) Nature, **391**, 79-82.
3. McCay P.B., Lai E.K., Poyer J.L., DuBose C.M., Janzen E.G. (1984) J. Biol. Chem., **259**, 2135-2143.
4. Dai Y., Cederbaum A.I. (1995) J. Pharmacol. Exp. Ther., **275**, 1614-1622.
5. Tomasi A., Albano E., Banni S., Botti B., Corongiu F., Dessi M.A., Iannone A., Vannini V., Dianzani M.U. (1987) Biochem. J., **246**, 313-317.
6. Simpson K.J., Lukacs N.W., Colletti L., Strieter R.M., Kunkel S.L. (1997) J. Hepatol., **27**, 1120-1132.
7. Oakley F., Mann J., Nailard S., Smart D.E., Mungalsingh N., Constandinou C., Ali S., Wilson S.J., Millward-Sadler H., Iredale J.P., Mann D.A. (2005) Am. J. Pathol., **166**, 695-708.
8. Duchon M.R. (2004) Mol. Aspects Med., **25**, 365-451.
9. Martin E.J., Raczy W.J., Forkert P.G. (2003) J. Pharmacol. Exp. Ther., **304**, 121-129.
10. Smuckler E.A. (1976) Environmental Health Perspectives, **15**, 13-25.
11. Moore L., Rodman Davenport G., Landon E.J. (1976) J. Biol. Chem., **251**, 1197-1201.
12. Chiu P.Y., Leung H.Y., Siu A.H., Poon M.K., Ko K.M. (2007) Biol. Pharm. Bull., **30**, 1108-1112.
13. Lee T.Y., Chang H.H., Wang G.J., Chiu J.H., Yang Y.Y., Lin H.C. (2006) J. Pharm. Pharmacol., **58**, 659-665.
14. Dremza I., Cheshchevik V., Zabrodska S., Maksimchik Y., Sudnikov E., Lapshina E., Zavadnik I. (2010) Biochemistry (Moscow), Suppl. Series B: Biomedical Chemistry, **4**, 264-268.
15. Maksimchik Yu., Dremza I., Lapshina E., Cheshchevik V., Sudnikov E., Zabrodska S., Zavadnik I. (2010) Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology, **4**, 187-195.

16. Cheshchevik V., Dremza I., Lapshina E., Zabrodskaia S., Kujawa J., Zavodnik I. (2011) Cell Biochem. Funct., **29**, 481-488.
17. Cheshchevik V., Lapshina E., Dremza I., Zabrodskaia S., Reiter R.J., Prokopchik N., Zavodnik I. (2012) Toxicol. Appl. Pharmacol., **261**, 271-279.
18. Johnson D., Lardy H.A. (1967) Methods Enzymol., **10**, 94-96.
19. Dremza I.K., Lapshina E.A., Kujawa J., Zavodnik I.B. (2006) Redox Rep., **11**, 185-192.
20. Ellman G.L. (1959) Arch. Biochem. Biophys., **82**, 70-77.
21. Rossi R., Cardaioli E., Scaloni A., Amiconi G., Di Simplicio P. (1995) Biochim. Biophys. Acta, **1243**, 230-238.
22. Stocks J., Dormandy T.L. (1971) Br. J. Haematol., **20**, 95-111.
23. Martinez J.I., Launay J.M., Dreux C. (1979) Anal. Biochem., **98**, 154-159.
24. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. (1974) J. Biol. Chem., **249**, 7130-7139.
25. Aebi H. (1984) Methods Enzymol., **105**, 121-126.
26. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J., Skipper P.L., Wishnok J.S. (1982) Anal. Biochem., **126**, 131-138.
27. Nulton-Persson A.C., Szveda L.I. (2001) J. Biol. Chem., **276**, 23357-23361.
28. Akerman K.E. (1979) Biochim. Biophys. Acta, **546**, 341-347.
29. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951) J. Biol. Chem., **193**, 265-275.
30. Jaeschke H., Bajt M.L. (2006) Toxicol. Sci., **89**, 31-41.
31. Padma P. (1999) Life Sci., **64**, 2411-2417.
32. Shi M.M., Kugelman A., Iwamoto, T., Tian L., Forman H.J. (1994) J. Biol. Chem., **269**, 26512-26517.
33. Moellering D.R., Levenon A.L., Go Y.M., Patel R.P., Dickinson D.A., Forman H.J., Darley-Usmar V.M. (2002) Biochem. J., **362**, 51-59.
34. Kurozumi R., Takahashi M., Kojima S. (2005) Biol. Pharm. Bull., **28**, 779-785.
35. Fernandez-Checa J.C., Kaplowitc N. (2005) Toxicol. Appl. Pharmacol., **204**, 263-273.
36. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. (2009) Биомед. химия, **55**, 255-277.

Поступила: 27. 01. 2015.

MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION AND COMPENSATORY MECHANISMS IN LIVER CELLS DURING ACUTE CARBON TETRACHLORIDE-INDUCED RAT INTOXICATION

I.B. Zavodnik

Yanka Kupala State University of Grodno,
50 Len. Kom. av., Grodno, 230030 Belarus; tel.: +375 152 48 45 83; fax: +375 152 43 41 21;
e-mail: zavodnik_il@mail.ru

Electron-transport chain and redox-balance of mitochondria are important targets that are damaged during intoxication. The aim of the present work was to estimate the role of impairments in cellular bioenergetic function in the development of liver damage during acute carbon tetrachloride intoxication in rats and to elucidate possible compensatory mechanisms. Acute CCl₄-induced rat intoxication (0.8 g/kg or 4 g/kg) resulted in considerable impairments of respiratory and synthetic mitochondrial functions; their manifestations depended on the dose of the toxic agent and the duration of the intoxication increased and accompanied by complete uncoupling of oxidation and phosphorylation processes in liver mitochondria. The intoxication induced considerable liver damage and accumulation of NO in blood plasma and liver tissue. The changes of some parameters of liver mitochondrial functional activity demonstrate an oscillative pattern, reflecting compensatory mechanisms during intoxication that involved increased reduced glutathione level and enhanced succinate dehydrogenase activity.

Key words: mitochondria, liver, intoxication, respiratory activity, adaptation