

УДК 577.352.465

ДЕЙСТВИЕ МАСЛА ИЗ СЕМЯН АМАРАНТА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ АДРЕНАЛИНА

Т. В. СИРОТА¹, О. П. ЕЛИСЕЕВА², Н. В. ХУНДЕРЯКОВА¹,
Д. В. КАМИНСКИЙ², О. А. МАХОТИНА², М. Н. КОНДРАШОВА¹

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизика РАН, Пущино, Россия;
e-mail: sirotatv@rambler.ru;

²Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина;
e-mail: betsin@rambler.ru

Показано, что трехнедельное ежедневное добавление к корму концентрированного масла (60–80 мкл/кг) из семян амаранта (*Amaranthus cruentus* L.) приводит к достоверной умеренной активации дыхания митохондрий печени крыс при окислении разных субстратов (сукцинат, сукцинат + глутамат, α -кетоглутарат и α -кетоглутарат + малонат). Введение низких доз адреналина (350 мкг/кг) не влияет на активированное маслом амаранта дыхание митохондрий при окислении сукцината, то есть подготовленные добавками масла животные были более стойкими к действию адреналина, что предупреждало гиперактивацию функций митохондрий. В группе контрольных животных, которым не скармливали масло, введение адреналина активирует скорость окислительного фосфорилирования при окислении сукцината и сукцинат + глутамата: увеличивает скорость потребления кислорода в состоянии 3 по Чансу и сокращает время фосфорилирования добавленного ADP.

В группе контрольных животных введение адреналина не влияет на исследуемые параметры дыхания митохондрий при окислении α -кетоглутарата, однако в присутствии малоната скорость окисления α -кетоглутарата в состоянии V_3 и разобщенного дыхания незначительно, но достоверно, увеличивается. В группе животных, которым скармливали масло амаранта, под влиянием адреналина поддерживается, но не увеличивается и так активированная скорость окислительного фосфорилирования в метаболическом состоянии V_3 , однако существенно и достоверно уменьшается время фосфорилирования.

Концентрированное масло из семян амаранта обладает, таким образом, активирующим влиянием на дыхание митохондрий при окислении двух основных митохондриальных субстратов (сукцината и α -кетоглутарата), что усиливает энергетическую функцию митохондрий и предупреждает гиперактивацию дыхания митохондрий при действии стрессорной дозы адреналина. Очевидно, адаптогенное влияние масла амаранта на организм можно объяснить выявленными эффектами на энергетическое состояние митохондрий.

Ключевые слова: митохондрии, дыхание, сукцинат, α -кетоглутарат, масло амаранта.

Влияние приема масла на энергетические функции митохондрий (МХ) вероятно, поскольку именно эти органеллы, наряду с пероксисомами, используют составляющие компоненты масел, в частности жирные кислоты, в качестве субстрата окисления. Использование диет с высоким (15–20%) и низким (до 5%) содержанием масла приводит к активации ферментов β -окисления жирных кислот в МХ и пероксисомах печени крыс: обнаружена экспрессия генов ферментов этих путей метаболизма и увеличение содержания мРНА [1–5]. Интересно, что даже относительно кратковременное (от 3 до 6 недель [6, 7]) использование “масляных” диет вызывает из-

менение состава жирных кислот, входящих в липиды митохондриальных мембран [6–8], но не влияет на содержание фосфолипидов и холестерина [6, 7]. Авторами отмечены отличия в реакциях фосфорилирования и обнаружена продукция пероксида водорода в МХ, окисляющих как сукцинат, так и пируват с малатом (в присутствии и в отсутствие антимицина) [7]. Отмечено, что образующийся пероксид водорода не вызывает окислительного повреждения липидов и белков митохондриальных мембран [7]. Использование “масляных” диет для кормления специально подготовленных тучных крыс (экспериментальная гиперинсулинемия) приводит к снижению экспрессии ферментов

липидного синтеза и к увеличению экспрессии ферментов окисления жирных кислот в МХ и, в большей степени, в пероксисомах [1]. Исследование функций МХ при пожизненном кормлении крыс (модель старения) растительными маслами (оливковое и подсолнечное) показало, что в МХ сердечной и скелетной мышц, но не в печени, активируется окисление липидов, а длительный прием оливкового масла приводит к снижению возраста МХ этих тканей [10].

Применяемые в диетах масла отличались содержанием насыщенных и ненасыщенных жирных кислот с разной длиной углеводородной цепи, а также минорных компонентов [1–12, 17, 18] и соответственно обладали разной физиологической активностью.

В настоящей работе исследовано действие кормления животных концентрированным маслом из семян амаранта (*Amaranthus cruentus* L.) на энергетические функции МХ печени крыс. В литературе достаточно сообщений об амарантовом масле, но сведений о его влиянии на функции МХ в доступной нам литературе не обнаружено. Интерес именно к маслу амаранта связан с уникальными свойствами как масла, так и самого растения [19–24]. Амарант не входит в фармакопеи Украины и России, однако существуют примеры его использования в нетрадиционной медицине. Наиболее ценны семена этого растения и получаемое из них масло. Описаны антиоксидантные и антидиабетические свойства семян и масла [20]. Показано, что при экспериментальном диабете изменения в активности антиоксидантных ферментов, уровень глюкозы и инсулина, содержание общего холестерина, триацилглицеролов и липопротеинов низкой плотности нормализуются при трехнедельном кормлении крыс маслом или семенами амаранта [20–21]. Гипогликемические и холестеролпонижающие свойства семян и масла амаранта выявлены и при использовании диеты с холестерином [22–23].

Амарантовое масло — уникальный по своему составу и содержанию биологически активных веществ природный продукт [24–25]. В нем содержится большое количество (до 67%) полиненасыщенных жирных кислот, лецитин, токоферолы, токотриенолы, каротиноиды; большое количество сквалена (до 8%), природного ациклического тритерпена с шестью двойными связями, занимающего центральное место при синтезе стероидов, в том числе гормонов и витамина D. Неизвестно ни одно растительное масло с подобным содержанием сквалена [24, 26]. В амарантовом масле представлена биологически активная группа

фитостеролов; их содержание в масле достигает 2%, основным из которых является спинастерол (до 54%). Биогенез фитостеролов тесно связан со скваленом. По составу жирных кислот амарантовое масло относится к группе линолевой кислоты (до 50%), оно содержит также 1%-ю ω -3-линоленовую кислоту, которая обладает высокой биологической активностью.

Показано, что кормление кур семенами амаранта приводит к снижению содержанию холестерина в яйцах [27]. Отмечено, что кормление семенами амаранта и его маслом ингибирует биосинтез холестерина у шестинедельных кур [28], чем, вероятно, и объясняется его холестеролпонижающее действие.

Возможно, один из механизмов действия амарантового масла связан с его влиянием на энергетическое состояние МХ печени. Настоящая работа посвящена исследованию функционального состояния МХ печени крыс, получавших с кормом масло семян амаранта. После проведенного курса кормления исследовали дыхательные параметры МХ в сравнении с контрольной группой (не получавшей масло) как в обычных условиях эксперимента, так и на фоне введения активирующих доз адреналина. Объектом исследования были МХ, сохраняющие нативное состояние, поскольку не претерпевали процедуры выделения и находились в гомогенате ткани. Преимущества исследований функционального состояния МХ в таких условиях нами описано в работе [30]. Подобный подход был использован и в работе [31], что позволило ее авторам выявить функциональные изменения в МХ, связанные с действием масла.

Материалы и методы

Животные и проведение эксперимента. Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Вистар. Начальный вес животных составлял 180 ± 16 г, после окончания приема масла — 330 ± 21 г. Животных содержали на стандартной диете в условиях вивария Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН. Были сформированы 4 группы животных: 1-ая группа — “контроль” — животные без воздействия, на обычной диете вивария; 2-ая группа — “адреналин” — животные, которым вводили интраперитонеально низкие активирующие дозы адреналина: 350 мкг/кг массы тела животного за 30 мин до декапитации; 3-ая группа — “амарант” — животные, получавшие *per os* на кусочке черного хлеба масло амаранта по 60–80 мкл на 1 кг массы тела животного индивидуально, каждая особь

один раз в сутки в течение 3 недель; 4-ая группа – “амарант + адреналин” – животные, получавшие амарантовое масло аналогично животным группы “амарант”; на этом фоне в день эксперимента животным вводили адреналин в той же дозе, что и животным группы “адреналин”. Животных периодически взвешивали для коррекции количества скармливаемого масла. Среднесуточный привес контрольных и опытных крыс (группа “амарант”) составлял $7,10 \pm 1,8$ и $6,30 \pm 0,9$ г соответственно (различия недостоверно, $P < 0,2$).

Получение гомогенатов. Для лучшего сохранения нативных свойств митохондрий, как описано нами ранее [30], исследования параметров дыхания МХ проводили в гомогенате ткани. После декапитации животного у него быстро извлекали печень, помещали ее в ледяную среду гомогенизации, содержащую 125 мМ КСl, 10 мМ НЕРЕС-КОН (рН 7,4). После промывания этой же средой ткань взвешивали, продавливали через охлажденный пресс, затем гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера-Эльвехайма при добавлении 1 мл среды на 1 г ткани. Полученный гомогенат фильтровали через двойной слой капрона. Работу проводили при температуре +4 °С. Концентрацию белка в гомогенате определяли по методу Лоури [32], она составляла $96,5 \pm 19,0$ мг/мл.

Измерение дыхания митохондрий. Дыхание митохондрий измеряли полярографическим методом с помощью закрытого платинового электрода Кларка в термостатированной (26 °С) кювете, объемом 1 мл, при постоянной фиксированной скорости перемешивания. Среда инкубации содержала: 125 мМ КСl; 10 мМ НЕРЕС-КОН, рН 7,2; 2 мМ $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_4$. В кювету вносили 50 мкл гомогената, что соответствовало $4,23 \pm 0,58$ мг белка. Добавляли в кювету по ходу регистрации: 0,2 мМ ADP и 0,025 мМ 2,4-динитрофенола (ДНФ). Регистрацию потребления кислорода проводили автоматически, используя АЦП и программное обеспечение, разработанное В. А. Шлектаревым (Ин-т теоретической и экспериментальной биофизики РАН) и В. Семеновым (ИБК РАН). Определяли следующие параметры дыхания МХ: V_2 – скорость потребления кислорода в присутствии субстрата окисления и фосфата при отсутствии ADP; V_3 – скорость дыхания МХ при окислительном фосфорилировании (ОФ); потребление кислорода в присутствии субстрата окисления, фосфата и добавлении ADP. По классификации Б. Чанса [33] состояние 3 – энергизованное состояние МХ; V_4 – скорость дыхания МХ после использования ADP в присутствии субстрата окисления и фосфата;

ДК – дыхательный (акцепторный) контроль состояния МХ: V_3/V_4 ; $t_{\text{ф}}$ – время фосфорилирования добавленного ADP; $V_{\text{днф}}$ – разобщенное состояние МХ: потребление кислорода митохондриями в присутствии разобщителя окислительного фосфорилирования протонофора 2,4-динитрофенола (ДНФ), т. е. деэнергизованное состояние МХ.

Реактивы. В работе использовали сукцинат, глутамат, α -кетоглутарат, малонат, 2,4-динитрофенол фирмы «Sigma» (США), а также реактивы отечественного производства квалификации о.с.ч. и х.ч. (КСl, $\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_4$). Все растворы готовили на бидистиллированной воде, доводили до рН 7,2 с использованием концентрированной КОН. Изучали влияние концентрированного масла из семян растения *Amaranthum cruentus* L., предоставленное Научно-производственным центром «Даника» (Харьков, Украина). Основными компонентами исследуемого масла являются высокомолекулярные жирные кислоты (пальмитиновая (С16:0) – 18%, олеиновая (С18:1) – 37%, линолевая (С18:2) – 41%), каротиноиды – 40 мг%, токоферолы и токотриенолы – 94,5 мг%, сквален – 3% [24, 34].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета Microsoft Excel. Достоверность результатов оценивали с помощью t -критерия Стьюдента. Величину $P < 0,05$ считали статистически достоверной.

Результаты и обсуждение

Влияние кормления животных маслом амаранта на окисление сукцината митохондриями печени. Известно, что сукцинат является наиболее эффективным субстратом окисления в митохондриях. Действие адреналина, активирующего разные звенья энергетического метаболизма в МХ, направлено, прежде всего, на избирательную стимуляцию окисления сукцината [35, 36].

В табл. 1 представлены результаты влияния приема масла амаранта на параметры дыхания митохондрий печени крыс при использовании в качестве субстрата окисления сукцината, а также сукцината с добавлением глутамата. Глутамат, участвуя в реакции переаминирования, устраняет оксалоацетатное ингибирование сукцинатдегидрогеназы (СДГ), что позволяет выявить скрытое торможение этого фермента, которое развивается при чрезмерной активности или повреждении митохондрий [35–37]. В присутствии глутамата при окислении сукцината выявилась бы допол-

нительная активация дыхания. Полученные результаты показали, что этот феномен практически отсутствует в проводимых исследованиях: добавка глутамата на фоне окисления сукцината не активирует дыхание МХ в состоянии 3 (окислительное фосфорилирование), 4 (V_2 и V_4) и разобщения (в присутствии ДНФ) у всех групп животных (табл. 1). Однако отмечено небольшое (12%, $P < 0,04$) уменьшение времени фосфорилирования (т.е. ускорение фосфорилирования) в присутствии глутамата в группе контрольных животных (группа 1), что указывает на наличие незначительного оксалоацетатного торможения (табл. 1).

Ранее нами было выявлено активирующее действие низких доз адреналина на фосфорилирующее окисление сукцината [37]. При действии используемой в настоящей работе дозы адреналина также активируется окислительное фосфорилирование в МХ печени: скорость фосфорилирующего дыхания (V_3) увеличивается на 32% ($P < 0,02$), а время фосфорилирования сокращается на 22% ($P < 0,02$). При этом не изменяется скорость дыхания в состоянии 4 (V_2 и V_4) и в присутствии разобщителя (деэнергизованные МХ).

Дыхание МХ печени крыс, получавших масло (группа “амарант”), было более активировано, чем при действии адреналина (группа “адреналин”): активация дыхания наблюдается как в состоянии 4, так и в состоянии 3, а также в деэнергизованных МХ. При окислении сукцината V_2 увеличивается на 46% ($P < 0,0005$), V_4 – на 33% ($P < 0,01$), V_3 – на 62% ($P < 0,0002$), $V_{\text{ДНФ}}$ – на 37% ($P < 0,003$). В отличие от животных группы “адреналин”, у животных группы “амарант” при значительном повышении скорости фосфорилирования практически не меняется время фосфорилирования.

Следует отметить, что при увеличении дозы адреналина, как показано нами ранее [37], происходит снижение скорости фосфорилирующего дыхания МХ, окисляющих сукцинат. Появление этого ингибирования связано с избыточным образованием оксалоацетата в цикле Кребса при гиперактивации дыхания МХ. Такое ингибирование снимается добавлением глутамата через реакцию переаминирования [37]. В настоящем исследовании показано (табл. 1), что на фоне активации дыхания МХ у животных группы “амарант” при введении адреналина (“амарант + адреналин”) практи-

Таблица 1. Влияние скормливания крысам масла амаранта на дыхание митохондрий гомогената их печени у контрольных животных и при введении адреналина в низких дозах. Субстрат окисления (1) – 4 мМ сукцината, (2) – 4 мМ сукцината + 2 мМ глутамата

Параметры дыхания	Группы животных				
	Контроль (n = 8)	“Адреналин” (n = 7)	“Амарант” (n = 5)	“Амарант + адреналин” (n = 4)	
V_2	(1)	14,8 ± 2,7	16,4 ± 4,2	21,6 ± 2,7*	17,7 ± 2,5*
	(2)	14,4 ± 4,1	16,3 ± 3,6	21,2 ± 3,4*	17,7 ± 5,1*
V_3	(1)	32,3 ± 3,3	42,6 ± 14,9*	52,4 ± 6,3*	51,0 ± 4,0*
	(2)	37,6 ± 10,2	42,4 ± 14,7	52,2 ± 7,5*	44,7 ± 6,1*
V_4	(1)	14,1 ± 4,6	15,5 ± 4,3	18,8 ± 1,5*	20,0 ± 3,6*
	(2)	14,3 ± 3,9	16,0 ± 3,7	18,4 ± 2,5*	19,0 ± 3,5*
$t_{\text{ф}}$, мин	(1)	0,64 ± 0,14*	0,50 ± 0,12*	0,62 ± 0,10	0,50 ± 0,06*
	(2)	0,56 ± 0,10	0,48 ± 0,08	0,60 ± 0,08	0,53 ± 0,09*
ДК	(1)	2,6 ± 0,53	2,70 ± 0,48	2,80 ± 0,24	2,60 ± 0,67
V_3/V_4	(2)	2,70 ± 0,57	2,70 ± 0,73	2,90 ± 0,38	2,50 ± 0,38
$V_{\text{ДНФ}}$	(1)	32,9 ± 9,4	34,0 ± 10,3	45,0 ± 6,1*	45,0 ± 6,1*
	(2)	34,4 ± 7,9	33,6 ± 8,8	45,2 ± 8,3*	45,7 ± 1,5*
Достоверность		* $P < 0,04$ (1) отн. (2)	* $P < 0,02$ отн. контр.	* $P < 0,0005-0,01$ отн. контр.	* $P < 0,003-0,01$ отн. контр.

Примечание: скорость потребления кислорода выражали в нг-атом O_2 /мин на 1 мг белка ($M \pm m$). Здесь и в табл. 2 * достоверные изменения (P), n – количество животных в группе

чески не изменяется скорость окислительного фосфорилирования (V_3), однако t_{ϕ} уменьшается до величины у животных группы “адреналин” и стало даже более коротким по сравнению с контролем (достоверное снижение на 18%, $P < 0,03$). Таким образом, прием масла амаранта приводит к умеренной активации дыхания МХ и предупреждает их гиперактивацию при действии адреналина (эффект прекондicionирования). Более того, в этой группе животных (“амарант + адреналин”), по сравнению с животными группы “амарант”, наблюдается тенденция к снижению параметров дыхания в состоянии 3 и 4 (только скорость V_2 , но не V_4) и сохраняется на прежнем уровне скорость дыхания дезэнергизованных МХ. Эти изменения не связаны с развитием оксалоацетатного торможения СДГ, поскольку добавление глутамата практически не влияет на исследуемые параметры дыхания. Кроме того, если в группе контрольных животных, как отмечалось выше, наблюдается незначительное оксалоацетатное торможение, выявленное по ускорению t_{ϕ} при добавлении глутамата, и эти изменения отсутствуют у животных групп “адреналин” и “амарант”, то при совместном действии двух факторов (группа “амарант + адреналин”) наблюдается даже некоторое снижение парамет-

ров дыхания МХ (V_3 и V_4) в экспериментах с добавлением глутамата. Этот эффект, согласно предшествующим наблюдениям [35–37], характерен для хорошо энергизованных митохондрий, т. е. прием масла приводит к энергизации МХ, повышая их сопряжение. В пользу этого указывает и тенденция к увеличению величины дыхательного контроля у животных группы “амарант” (табл. 1).

Таким образом, показано, что прием масла из семян амаранта приводит к активации окисления сукцината митохондриями. Кроме того, впервые именно на уровне исследования функций МХ установлено его энергосберегающее действие, которое предупреждает гиперактивацию дыхания МХ в условиях стресса. С этим, вероятно, и связано его положительное адаптогенное действие на организм.

Ограничение возможной гиперактивации дыхания МХ в условиях стресса является важнейшим физиологическим регуляторным механизмом организма. На ограничение гиперактивных реакций направлено действие многих факторов [35–36]. Применение масла амаранта для этих целей может быть полезным и особенно перспективным при использовании его в области спортивной медицины и при различных стрессовых ситуациях.

Таблиця 2. Влияние скармливания крысам масла амаранта на дыхание митохондрий гомогената их печени у контрольных животных и при введении им адреналина в низких дозах. Субстрат окисления: (1) – 4 мМ α -кетоглутарата, (2) – 4 мМ α -кетоглутарата + 1 мМ малоната (2)

Параметры дыхания	Группы животных				
	Контроль (n = 8)	“Адреналин” (n = 7)	“Амарант” (n = 5)	“Амарант + адреналин” (n = 4)	
V_2	(1)	10,8 ± 2,6	10,1 ± 4,1	14,7 ± 3,1*	12,7 ± 1,5
	(2)	10,6 ± 1,6	10,2 ± 3,8	15,3 ± 3,0*	14,3 ± 3,2
V_3	(1)	19,6 ± 4,5	22,6 ± 7,9	30,6 ± 5,8*	30,7 ± 5,5
	(2)	12,4 ± 1,5	15,3 ± 4,4*	18,4 ± 4,6*	21,0 ± 4,2
V_4	(1)	9,4 ± 1,6	10,3 ± 3,5	13,6 ± 4,0*	17,8 ± 3,0
	(2)	7,9 ± 1,7	9,0 ± 2,5	11,0 ± 2,6*	12,8 ± 2,9
t_{ϕ} , мин	(1)	0,72 ± 0,11	0,75 ± 0,13	0,87 ± 0,13*	0,66 ± 0,09*
	(2)	1,46 ± 0,26	1,21 ± 0,34	1,94 ± 0,60*	1,10 ± 0,16*
ДК	(1)	2,00 ± 0,37	2,2 ± 0,36	2,4 ± 0,3	2,10 ± 0,44
V_3/V_4	(2)	1,70 ± 0,27	1,9 ± 0,54	1,70 ± 0,13	1,60 ± 0,17
$V_{\text{днф}}$	(1)	22,7 ± 4,5	23,0 ± 7,6	26,2 ± 7,9	27,3 ± 4,0
	(2)	13,6 ± 2,8	*17,7 ± 4,3	17,6 ± 4,0*	19,0 ± 5,3
Достоверность	–	$P < 0,03$ –0,05 отн. контр.	$P < 0,002$ –0,03 отн. контр.	$P < 0,02$ отн. “амарант”	

Влияние кормления животных маслом амаранта на окисление α -кетоглутарата митохондриями печени. В табл. 2 представлены параметры дыхания МХ контрольных и опытных животных при использовании другого субстрата окисления цикла Кребса — α -кетоглутарата, а также α -кетоглутарата совместно с малонатом — специфическим ингибитором СДГ. В отличие от сукцината, окисление которого связано с активацией физиологической деятельности организма, окисление NAD-зависимого субстрата α -кетоглутарата характерно для восстановительных, в том числе биосинтетических процессов [36, 39]. Кроме того, α -кетоглутарат используется также в реакциях переаминирования и поддерживает таким образом не только энергетические, но и пластические процессы в клетке. Поскольку продуктом реакции окисления α -кетоглутарата в цикле Кребса является сукцинат, необходимо вычленив долю образующегося сукцината при окислении добавляемого α -кетоглутарата. Для этой цели исследование параметров дыхания МХ проводилось не только при окислении α -кетоглутарата, но и в присутствии малоната. Такая постановка эксперимента (α -кетоглутарат \pm малонат) позволяет выявить вклад окисления образующегося сукцината и определить собственную (истинную) скорость окисления α -кетоглутарата. Показано, что малонат существенно снижает дыхание МХ при всех исследованных условиях в контрольной группе и в группах “адреналин”, “амарант”, “амарант + адреналин”): V_3 ингибируется на 63, 68, 60 и 68%, а t_{ϕ} в присутствии малоната увеличивается на 102, 61, 122 и 67% соответственно (табл. 2). Также снижается разобщенное дыхание МХ, а в состоянии 4 (V_2 и V_4) в присутствии малоната остается без значительных изменений. Поскольку малонат снижает фосфорилирующее дыхание МХ, можно полагать, что эксперименты, где α -кетоглутарат окисляется без малоната, отражают не только его собственное окисление, но и окисление образующегося сукцината. Действительно, полученные результаты в какой-то степени соответствуют изменению дыхания МХ при окислении сукцината (табл. 1). Исключением являются результаты по действию адреналина. Так, у животных группы “адреналин” в отсутствие малоната параметры окислительного фосфорилирования практически не изменяются, в присутствии же малоната наблюдается небольшая активация V_3 (23%; $P < 0,05$) и $V_{\text{днф}}$

(30%, $P < 0,03$), а также тенденция к сокращению времени фосфорилирования (ускорение дыхания), т.е. под действием адреналина активируется также скорость окисления α -кетоглутарата (табл. 2).

Прием масла, активируя скорость дыхания МХ во всех метаболических состояниях при окислении α -кетоглутарата (в присутствии и в отсутствие малоната), существенно увеличивает время фосфорилирования, а действие адреналина на фоне приема масла сокращает время фосфорилирования. Следует отметить, что употребление масла амаранта сильнее активирует окислительное фосфорилирование, чем действие адреналина, при этом совместное действие масла и адреналина не приводит к гиперактивации и сдерживает процесс активации адреналином. Действие адреналина на животных, получавших масло (группа “амарант + адреналин”) проявляется в том, что при сохранении высокой скорости V_3 , которая обусловлена вкладом окисления образующегося сукцината и собственного окисления α -кетоглутарата, t_{ϕ} достоверно уменьшается относительно группы “амарант” и становится даже ниже, чем у животных группы “адреналин”, а также контрольных животных. Таким образом, показано, что прием масла амаранта активирует дыхание МХ в большей степени за счет окисления сукцината, образующегося в цикле Кребса при окислении α -кетоглутарата, однако окислительное фосфорилирование при использовании в качестве субстрата окисления собственно α -кетоглутарата также активируется. Очевидно, выявленная активация дыхания МХ печени крыс, получавших масло амаранта, может быть связана с притоком иных субстратов, например жирных кислот.

Полученные результаты и данные литературы позволяют сделать заключение, что непродолжительное кормление животных маслом амаранта приводит к изменениям в функционировании МХ и, как показано в настоящем исследовании, наблюдается активация дыхания МХ во всех метаболических состояниях при окислении как сукцината, так и α -кетоглутарата. Кроме того, получен важный результат, свидетельствующий о том, что непродолжительный прием масла из семян амаранта позволяет защитить МХ от возможной гиперактивации. Таким образом, масло амаранта может быть рекомендовано, как антистрессорное и адаптогенное средство.

**ВПЛИВ ОЛІЇ ІЗ НАСІННЯ АМАРАНТУ
НА ЕНЕРГЕТИЧНІ ФУНКЦІЇ
МІТОХОНДРІЙ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ
В УМОВАХ ВВЕДЕННЯ АДРЕНАЛІНУ**

*Т. В. Сирота¹, О. П. Єлісеєва²,
Н. В. Хундерякова¹, Д. В. Камінський²,
О. О. Махотіна², М. Н. Кондрашова¹*

¹Інститут теоретичної та експериментальної
біофізики РАН, Пушино, Росія;
e-mail: sirotatv@rambler.ru;

²Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, Україна;
e-mail: betsin@rambler.ru

Показано, що в разі трьохтижневого щоденного додавання до корму концентрованої олії (60–80 мкл/кг) із насіння амаранту (*Amaranthus cruentus* L.) відбувається достовірна помірна активація дихання мітохондрій (МХ) печінки щурів під час окислення таких субстратів, як сукцинат, сукцинат + глутамат, α -кетоглутарат і α -кетоглутарат + малонат. Введення низьких доз адреналіну (350 мкг/кг) не впливає на активоване олією амаранту дихання МХ при окисленні сукцинату, тобто підготовлені добавками олії тварини були стійкіші до дії адреналіну, що запобігало гіперактивації в них функцій МХ. У групі контрольних тварин, які не отримували олії, введення адреналіну активує швидкість окисного фосфорилування при окисленні сукцинату та сукцинат + глутамату: збільшується швидкість споживання кисню у стані 3 по Чансу і скорочується час фосфорилування доданого АДФ.

У групі контрольних тварин введення адреналіну не впливає на досліджувані параметри дихання МХ під час окислення α -кетоглутарату, однак у присутності малонату швидкість окислення α -кетоглутарату в стані V_3 і роз'єданого дихання незначно, але вірогідно, збільшується. У групі тварин, яким згодували олію амаранту, під впливом адреналіну підтримувалась, але не збільшувалась і так активована швидкість окисного фосфорилування в метаболічному стані V_3 , проте істотно і достовірно зменшився час фосфорилування.

Концентрована олія із насіння амаранту, таким чином, активує дихання МХ під час окислення сукцинату та α -кетоглутарату – основних мітохондріальних субстратів, що посилює енергетичну функцію МХ та запобігає гіперактивації дихання МХ під час дії стресорної дози адреналіну. Очевидно, адаптогенний вплив олії амаранту на організм пояснюється виявленими ефектами на енергетичний стан МХ.

Ключові слова: мітохондрії, дихання, сукцинат, α -кетоглутарат, олія амаранту.

**AMARANTH SEEDS OIL ACTION
ON ENERGETIC FUNCTIONS OF RAT
LIVER MITOCHONDRIA UNDER
ADRENALINE INTRODUCTION**

*T. V. Sirota¹, O. P. Yelisyeyeva²,
N. V. Khunderyakova¹, D. V. Kaminsky²,
O. O. Makhotina², M. N. Kondrashova¹*

¹Institute of Theoretical and Experimental Biophysics,
Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia;
e-mail: sirotatv@rambler.ru;

²Danylo Halytsky Lviv National Medical
University, Lviv, Ukraine;
e-mail: betsin@rambler.ru

S u m m a r y

It has been shown that a three-week feeding of rats with oil derived from seeds of amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) leads to a moderate activation of respiration of coupled and uncoupled rat liver mitochondria (MCh) that oxidize succinate and succinate + glutamate, as well as α -ketoglutarate and α -ketoglutarate + malonate.

In animals receiving the amaranth oil, the injection of adrenaline did not affect the oil-activated respiration of MCh during succinate oxidation; i. e., animals prepared by an oil-enriched diet were resistant to the action of adrenaline, which prevented from possible hyperactivation of mitochondrial functions. In the group of control animals, which received no oil, the injection of adrenaline activated the rate of phosphorylating respiration of MCh during oxidation of succinate or succinate + glutamate: the rate of oxygen uptake in state 3 respiration (by Chance) increased, and the phosphorylation time decreased. The injection of adrenaline did not affect the parameters of respiration of MCh that oxidize α -ketoglutarate; however, in the presence of malonate, the oxidation of α -ketoglutarate in state 3 and uncoupled respiration have shown mild but significant increase in response to adrenaline. In animals receiving the amaranth oil, the oil-induced activation of respiration of MCh in response to adrenaline retained but did not increase; however, the phosphorylation time significantly decreased.

Thus, concentrated oil of seeds activates the respiration of MCh. In addition, it enhances an energetic function of MCh, which prevents from the hyper-activation of mitochondrial respiration by adrenaline. Therefore an activation of energetic function of MCh by amaranth oil could explain its adaptogenic effect on rats.

Key words: mitochondria, respiration, succinate, α -ketoglutarate, amaranth oil.

1. Deng X., Elam M. B., Wilcox H. G. et al. // *Endocrinology*. – 2004. – **145**, N 12. – P. 5847–5861.
2. Mizukuchi A., Umeda-Sawada R., Igarashi O. // *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*. – 2003. – **49**, N 5. – P. 320–326.
3. Ide T., Hong D. D., Ranasinghe P. et al. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2004. – **1682**, N 1–3. – P. 80–91.
4. Guo W., Xie W., Lei T. Hamilton J. A. // *Lipids*. – 2005. – **40**, N 8. – P. 815–821.
5. Hong D. D., Takahashi Y., Kushihiro M., Ide T. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2003. – **1635**, N 1. – P. 29–36.
6. Giudetti A. M., Sabetta S., di Summa R. et al. // *J. Lipid Res*. – 2003. – **44**, N 11. – P. 2135–2141.
7. Ramsey J. J., Harper M. E., Humble S. J. et al. // *Biochem. Mol. Biol*. – 2005. – **140**, N 1. – P. 99–108.
8. Quiles J. L., Martinez E., Ibanez S. et al. // *J. Bioenerg. Biomembr*. – 2002. – **34**, N 6. – P. 517–524.
9. Siculella L., Sabetta S., Damiano F. et al. // *FEBS Lett*. – 2004. – **578**, N 3. – P. 280–284.
10. Ochoa J. J., Quiles J.L., Ibanez S. et al. // *J. Bioenerg. Biomembr*. – 2003. – **35**, N 3. – P. 267–275.
11. Wu B., Iwakiri R., Ootani A. et al. // *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. – 2004. – **229**, N 10. – P. 1017–1025.
12. Agarwal M. K., Agarwal M. L., Athar M., Gupta S. // *Cell Cycle*. – 2004. – **3**, N 2. – P. 205–211.
13. Dong M. L., Ding X. Z., Adrian T. E. // *World J. Gastroenterol*. – 2004. – **10**, N 1. – P. 105–111.
14. Dong M. L., Zhu Y. C., Hopkins J. V. // *Ibid.* – 2003. – **9**, N 12. – P. 2745–2750.
15. Ng Y., Barhoumi R., Tjalkens R. B. et al. // *Carcinogenesis*. – 2005. – **26**, N 11. – P. 1914–1921.
16. Tang D. G., La E., Kern J. P., Kehrer J. P. // *Biol. Chem*. – 2002. – **383**, N 3–4. – P. 425–442.
17. Wu X. J., Stahl T., Hu Y. et al. // *J. Nutr*. – 2006. – **136**, N 3. – P. 608–613.
18. Padma V. V., Devi C. S. // *Indian. J. Exp. Biol*. – 2002. – **40**, N 3. – P. 268–272.
19. Чиркова Т. В. // *Соросовский образов. журн.* – 1999. – № 10. – С. 22–27.
20. Kim H. K., Kim M. J., Cho H. Y. et al. // *Cell Biochem. Funct.* – 2006. – **24**, N 3. – P. 195–199.
21. Kim H. K., Kim M. J., Shin D. H. // *Ann. Nutr. Metab.* – 2006. – **50**, N 3. – P. 277–281.
22. Shin D. H., Heo H. J., Lee Y. J., Kim H. K. // *Br. J. Biomed. Sci.* – 2004. – **61**, N 1. – P. 11–14.
23. Berger A., Gremaud G., Baumgartner M. et al. // *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* – 2003. – **73**, N 1. – P. 39–47.
24. Камінський Д. В., Єлісеєва О. П., Черкас А. П. та ін. // *Мед. хімія*. – 2002. – **3**, № 4. – С. 77–85.
25. He H. P., Cai Y., Sun M., Corke H. // *J. Agric. Food. Chem.* – 2002. – **50**, N 2. – P. 368–372.
26. Su Q., Rowley K. G., Itsiopoulos C., O’Dea K. // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2002. – **56**, N 11. – P. 1149–1154.
27. Punita A., Chaturvedi A. // *Plant Foods Hum. Nutr.* – 2000. – **55**, N 2. – P. 147–157.
28. Qureshi A. A., Lehmann J. W., Peterson D. M. // *J. Nutr.* – 1996. – **126**, N 8. – P. 1972–1978.
29. Bruni R., Guerrini A., Scalia S. et al. // *Phytochem Anal.* – 2002. – **13**, N 5. – P. 257–281.
30. Kondrashova M. N., Fedotcheva N. I., Saakyan I. R. et al. // *Mitochondrion*. – 2001. – **1**. – P. 249–267.
31. Бронников Г. Е., Ротару В. К., Агар Л. и др. *Матер. Всеросс. раб. совещания «Митохондрии в патологии»* / Пушино, 2001. – С. 164–167.
32. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**. – P. 265–275.
33. Chance B., Williams G. R. // *Ibid.* – 1955. – **217**. – P. 383–393.
34. Єлісеєва О. П., Камінський Д. В., Черкас А. П. та ін. // *Укр. біохім. журн.* – 2006. – **78**, № 1. – С. 117–123.
35. Кондрашова М. Н. // *Биохимия*. – 1991. – **56**, № 3. – С. 388–405.
36. Кондрашова М. Н., Григоренко Е. В. // *Журн. общ. биол.* – 1985. – **46**, № 4. С. 516–526.
37. Кондрашова М. Н., Бабский А. М. // *Укр. биохим. журн.* – 1986. – **58**, № 5. – С. 49–54.
38. Olson M. S., Allgyer T. T. // *J. Biol. Chem.* – 1973. – **248**. – P. 1582–1589.
39. Шостаковская И. В., Долиба Н. М., Гордий С. К. и др. // *Укр. биохим. журн.* – 1986. – **58**, № 5. – С. 54–61.

Получено 22.07.2007