БИОФИЗИКА

DOI - 10.32743/UniChem.2021.83.5.11665

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ТАНИНОВ НА МИТОХОНДРИАЛЬНУЮ МЕГАПОРУ
ПЕЧЕНИ КРЫС**Сайфиева Хамида Джуроевна**

базовый докторант,
Институт биофизики и биохимии при НУУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: xamida.djurayevna@mail.ru

Эргашев Нурали Аъзамович

канд. биол. наук, зав. лаб.,
Институт биофизики и биохимии при НУУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: nurali7973@mail.ru

Йулдошев Бобурбек Гофур угли

магистрант,
Национальный университет Узбекистана,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: boburbek@gmail.com

Комилов Эсохон Жураевич

ст. научн. сотрудник,
Институт биофизики и биохимии при НУУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: esohon83@gmail.com

Махмудов Рустам Расулжонович

ст. научн. сотрудник,
Институт биоорганической химии АН РУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: chemist.makhmudov@gmail.com

Асраров Музаффар Исламович

д-р биол. наук, проф., зам. дир.,
Институт биофизики и биохимии при НУУз,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: Asrarov54@mail.ru

THE EFFECT OF SOME TANINS ON THE RAT LIVER MITOCHONDRIAL MEGAPORE

Khamida Sayfieva

basic doctoral student,
Institute of Biophysics and Biochemistry under NUUz,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Nurali Ergashev

candidate of sci., head of lab.,
Institute of Biophysics and Biochemistry under NUUz,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Boburbek Yuldoshev

Master student,

National University of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Esokhon Komilov

senior researcher,
Institute of Biophysics and Biochemistry at the NUUZ,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Rustam Makhmudov

senior researcher,
Institute of Bioorganic chemistry AS RUZ,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

Muzaffar Asrarov

DSc, prof., Deputy Director,
Institute of Biophysics and Biochemistry at the NUUZ,
Republic of Uzbekistan, Tashkent

АННОТАЦИЯ

В данном исследовании изучено влияние некоторых танинов на циклоспорин А (ЦсА)-чувствительную мегапору митохондрий печени крысы. Установлено, что ингибирование танинами, в частности Глюкопир Т и Ксилопир Т, приводит к конформационным изменениям митохондриальной мегапоры, вызванное 10 мкМ Ca^{2+} в митохондриях печени крысы. Полумаксимальная концентрация ингибирования (IC_{50}) составляет для Глюкопир Т $42,2 \pm 3,8 \text{ мкМ}$, а для Ксилопир Т – $101,7 \pm 3,1 \text{ мкМ}$.

ABSTRACT

In this study the effect of some tannins on cyclosporin A (CsA)-sensitive rat liver mitochondrial permeability transition pore (mPTP) was investigated. It was found that inhibition of the conformational change of mPTP by tannins, particularly Glucopyr T and Xylopyr T, caused by $10 \text{ }\mu\text{M}$ of Ca^{2+} in rat liver mitochondria. The half-maximum inhibitory concentration was $42.2 \pm 3.8 \text{ }\mu\text{M}$ for glucopyrite T and $101.7 \pm 3.1 \text{ }\mu\text{M}$ for xylopyrine T.

Ключевые слова: митохондрии печени, мегапора, глутамат, малат, танины.

Keywords: liver mitochondria, mptp, glutamate, malate, tannins.

Регуляция свободного Ca^{2+} в митохондриях критически важна для клеточного гомеостаза [5, с. 795; 6, р. 1]. Митохондрии первично реагируют на окислительный стресс, приводя к развитию различных патологических состояний [10, р. 35]. При окислительном стрессе мегапора, расположенная на внутренней мембране митохондрий, переходит в открытое конформационное состояние, обеспечивая неспецифический вход с массой до $1,5 \text{ кДа}$ веществ в матрикс митохондрий [9, р. 129]. То есть активность мегапоры, чувствительной к циклоспирину А (ЦсА) (РТР – permeability transition pore), которая зависит от ионов Ca^{2+} , как полагают, спонтанно связана с апоптозом и/или некрозом животных клеток [4, с. 1261]. Открытие ЦсА-чувствительной мегапоры в митохондриях приводит к ее сильному набуханию, разрыву внешней мембраны, выбросу межмембранных компонентов в цитозоль клетки и стимулирует развитие апоптоза [2, с. 356]. Кроме того, в тканях нарушается антиоксидантно-прооксидантная система и развивается перекисное окисление липидов. Перекисное окисление липидов приводит к усилению многих патологических процессов [7, р. 118].

Учитывая вышеизложенное, в настоящее время важно выбрать потенциальные фармакологические соединения путем изучения клеточных и субклеточных механизмов действия биологически активных

веществ, выделенных из растений. Среди биологически активных веществ особое место занимают полифенольные соединения, в том числе танины. Танины представляют собой широкий спектр биологически активных веществ и обладают антиоксидантными, антигипоксическими, антимикробными, противовирусными, противовоспалительными, мембранотропными и другими свойствами [3, с. 278; 17, р. 1]. Чтобы прояснить механизмы действия танинов на организм и создания новых лекарственных средств, очень важно изучить их действие на функции клеток и субклеточных структур.

Целью данного исследования явилось изучение влияния некоторых танинов, таких как Глюкопира Т [гексагидроксидифеноил-1-(α - β -D-глюкопиранозид)-2-(α -4-D-галлоил- β -D-глюкопиранозид)] и Ксилопира Т [гексагидроксидифеноил-1-(α -2- α -галлоил- β -D-глюкопиранозид)-1-(α - β -D-ксилопиранозид)], выделенных из растений *Plantago major L.*, на мегапоры митохондрий печени крысы.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось на белых беспородных крысах массой тела 180–200 г. Митохондрии печени крысы выделяли методом дифференциального центрифугирования по методу Шнайдера [14, р. 1–22]. Среда выделения содержала 250 мМ сахарозу, 1 мМ ЭДТА,

10 мМ трис-НСl, pH 7,4. На первом этапе центрифугирование проводили при скорости 1500 об/мин в течение 7–8 минут. На втором этапе центрифугирование проводили в течение 15 минут при скорости 6000 об/мин. Суспензию митохондрий разбавляли в среде выделения без ЭДТА и хранили на льду. Концентрация белка в маточной суспензии составляла 75–90 мг/мл. Белок определяли по методу биурета [8, p. 751–766].

Состояние митохондриальной Ca^{2+} -зависимой мегапоры оценивали по изменению оптической плотности суспензии митохондрий при длине волны 540 нм в кювете объемом 3,0 мл с интенсивным перемешиванием при температуре 26 °C и содержанием белка 0,3–0,4 мг/мл в среде инкубации. Среда инкубации содержала 120 мМ KCl, 5 мМ глутамат, 5 мМ малат, 1 мМ KH_2PO_4 , 20 мкМ Ca^{2+} -ЭГТА буфер, 20 мМ HEPES, 20 мМ трис-НСl, олигомицин – 1 мкг/мл, pH 7,2 [11, p. 1–7].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы *Origin 6.1* с вычислением средней арифметической величины (M), стандартной ошибки (m) и показателя достоверности (p). Величину $p < 0,05$ рассматривали как показатель достоверных различий.

Результаты и их обсуждение. В экспериментах набухания митохондрий печени индуцировали 10 мкМ Ca^{2+} , и этот процесс оценивали как открытие РТР. В экспериментах (рис. 1А) концентрация 10 мкМ

танина Глюкопира Т ингибирует набухание митохондрий печени крысы на $17,3 \pm 1,4$ % относительно контроля. В этих условиях Глюкопир Т в концентрации 20 мкМ достоверно ингибировал скорость набухания митохондрий на $28,0 \pm 2,1$ % относительно контроля. Глюкопир Т в концентрациях 30 и 40 мкМ достоверно снижал скорость набухания митохондрий по сравнению с контролем на $40,1 \pm 2,4$ % и $47,8 \pm 3,1$ % соответственно. Более высокая концентрация этого танина 50 мкМ ингибировала набухание митохондрий на $56,3 \pm 2,9$ % относительно контроля. Из полученных данных видно, что это соединение ингибирует открытие мегапоры митохондрий, вызванное Ca^{2+} , и приводит к стабилизации мембран митохондрий печени крыс. Увеличение концентрации исследуемого соединения в среде инкубации не приводило к дальнейшему ингибированию мегапоры митохондрий. IC_{50} данного соединения составляет $42,2 \pm 3,8$ мкМ.

Следующее соединение Ксилопир Т в концентрации 50 мкМ ингибировало набухание митохондрий печени, индуцированного 10 мкМ Ca^{2+} , на $31,4 \pm 1,6$ % относительно контроля. Концентрация этого полифенола 100 мкМ уменьшала набухание митохондрий печени на $48,8 \pm 3,1$ % относительно контроля. Было обнаружено, что концентрации 150 и 200 мкМ Ксилопира Т ингибирует Ca^{2+} -зависимое набухание митохондрий печени крысы на $65,4 \pm 3,1$ % и $72,3 \pm 1,9$ % соответственно (рис. 1Б). IC_{50} составляет $101,7 \pm 3,1$ мкМ.

Рисунок 1. Влияние Глюкопира Т (А) и Ксилопира Т (Б) на Ca^{2+} -зависимое набухание митохондрий печени крыс (* – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, * – $P < 0,001$; $n = 5$), ЦсА – 10 мкМ**

Полученные результаты показывают, что исследованные танины вызывают дозозависимое ингибирование Ca^{2+} -зависимого митохондриального мегапоры печени крысы. Было обнаружено, что эти таниновые полифенолы ингибируют митохондриальную мегапору и проявляют высокие антирадикальные свойства [1, с. 1; 12, p. 1022]. Они являются мощными антиоксидантами [15, p. 333; 13, p. 371]. Также

показано, что полифенольные соединения избирательно влияют на потенциал митохондриальной мембраны, гликолиз и прооксидантно-антиоксидантные пути в раковых клетках. А также их противораковая активность может быть связана с протонотонным свойством, так как полифенолы рассеивают мембранный потенциал и таким образом приводят к разобщению митохондрий [16, p. 1589], и их прооксидантный

эффект может быть связан с их проапоптотическим эффектом [13, р. 371].

Заключение. Таким образом, показано, что исследованные полифенольные соединения Глюкопир

Т и Ксилопир Т приводят к ингибированию митохондриальной мегапоры печени крысы и полумаксимальная концентрация ингибирования составляет $42,2 \pm 3,8$ мкМ и $101,7 \pm 3,1$ мкМ соответственно.

Список литературы:

1. Антиоксидантные и мембраноактивные свойства 1,4,6-три-о-галлоил-2,3-валонеил- β -d-глюкозы / У.Г. Гайибов, Э.Дж. Комилов, Н.А. Эргашев, Р.Н. Рахимов [и др.] // J. Eur. Med. (Словакия). – 2018. – № 1 – С. 1–15.
2. Владимиров Ю.А. Нарушение барьерных свойств внутренней и наружной мембран митохондрий, некроз и апоптоз // Биол. мембраны. – 2002. – Т. 19. – № 5. – С. 356–377.
3. Действие гидролизуемого танина на нативные и искусственные биологические мембраны / М.П. Борисова, А.А. Катаев, С.М. Мавлянов, Н.Г. Абдулладжанова // Биол. мембраны. – 2014. – Т. 31. – № 4. – С. 278–287.
4. Кальцийзависимая неспецифическая проницаемость внутренней митохондриальной мембраны не индуцируется в митохондриях дрожжей *Endomyces magnusii* / Ю.И. Дерябина, Е.П. Исакова, Е.И. Шурубор, Р.А. Звягильская // Биохимия. – 2004. – Т. 69. – № 9. – С. 1261–1270.
5. Транспорт ионов Ca^{2+} митохондриями: механизмы, молекулярные структуры и значение для клетки / К.Н. Белослудцев, М.В. Дубинин, Н.В. Белослудцева, Г.Д. Миронова // Биохимия. – 2019. – Т. 84. – № 6. – С. 759–775.
6. Cyclosporin A increases mitochondrial buffering of calcium: an additional mechanism in delaying mitochondrial permeability transition pore opening / J. Mishra, A.J. Davani, G.K. Natarajan, W.-M. Kwok [et al.] // Cells. – 2019. – V. 8. – № 9. – P. 1–23.
7. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health / V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra // Pharmacogn Rev. – 2010. – V. 4. – № 8. – P. 118–126.
8. Gornall A.G., Bardawill C.J., David M.M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction // J Biol Chem. – 1949. – V. 177. – № 2. – P. 751–766.
9. Halestrap A.P., Richardson A.P. The mitochondrial permeability transition: a current perspective on its identity and role in ischaemia/reperfusion injury // J Mol Cell Cardiol. – 2015. – V. 78. – P. 129–141.
10. Hauser D.N., Hastings T.G. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease and monogenic parkinsonism // Neurobiol Dis. – 2013. – V. 51. – P. 35–42.
11. He L., Lemasters J.J. Regulated and unregulated mitochondrial permeability transition pores: a new paradigm of pore structure and function? // FEBS Lett. – 2002. – V. 512. – № 1–3. – P. 1–7.
12. Influence of new polyphenol compound from *Euphorbia* plant on mitochondrial function / U.G. Gayibov, E.J. Komilov, R.N. Rakhimov, N.A. Ergashev [et al.] // J. Microbiol. Biotech. Food Sci. – 2019. – V. 8. – № 4. – P. 1021–1025.
13. León-González A.J., Auger C., Schini-Kerth V.B. Pro-oxidant activity of polyphenols and its implication on cancer chemoprevention and chemotherapy // Biochem Pharmacol. – 2015. – V. 98. – № 3. – P. 371–380.
14. Schneider W.C., Hogeboom G.H. Cytochemical studies of mammalian tissues: the isolation of cell components by differential centrifugation // Cancer. Res. – 1951. – V. 11. – № 1. – P. 1–22.
15. Stabilization of erythrocytes against oxidative and hypotonic stress by tannins isolated from sumac leaves (*Rhus typhina* L.) and grape seeds (*Vitis vinifera* L.) / E. Olchowik, K. Lotkowski, S. Mavlyanov, N. Abdullajanova [et al.] // Cell Mol Biol Lett. – 2012. – V. 17. – № 3. – P. 333–348.
16. Stevens J.F., Revel J.S., Maier C.S. Mitochondria-centric review of polyphenol bioactivity in cancer models // Antioxid Redox Signal. – 2018. – V. 29. – № 16. – P. 1589–1611.
17. Tannin profile, antioxidant properties, and antimicrobial activity of extracts from two Mediterranean species of parasitic plant *Cytinus* / G. Maisetta, G. Batoni, P. Caboni, S. Esin [et al.] // BMC Complement Altern Med. – 2019. – V. 19. – № 1. – P. 1–11.