

**ՊԼԱՍՏՈՔԻՆՈՆԻ ԱԾԱՆՑՅԱԼ SKQ1 ՀԱԿԱՕՔՍԻԴԱՆՏԻ ՏԱՐԲԵՐ
ՉԱՓԱԲԱԺԻՆՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱԵՖԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ
ՈՒՂԵՂԻ ԵՎ ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ՄԻՏՈՔՈՆԴՐԻՈՒՄՆԵՐՈՒՄ**

Ա. Ս. ՄԱՐԳԱՐՅԱՆ

Կենսաքանական գիտությունների թեկնածու, դոցենտ

Ա. Ա. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

ՀՀ գիտության վաստակավոր գործիչ, պրոֆեսոր,

*ԳՊՀ կենսաքանության, էկոլոգիայի և
առողջ ապրելակերպի ամբիոնի վարիչ*

Մ. Հ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

*ԳՊՀ կենսաքանության, էկոլոգիայի
և առողջ ապրելակերպի ամբիոնի դասախոս*

Հայտնի է, որ թթվածնի ակտիվ ձևերը լուրջ վտանգ են ներկայացնում բջիջների և օրգանիզմի կենսագործունեության համար: Դրանք գոյանում են միտոքոնդրիումների ներքին թաղանթի հիդրոֆոր հատվածում և առաջացնում են լիպիդների գերօքսիդացման շղթայական ռեակցիաներ՝ ճնշելով էներգիական համակարգերի ֆունկցիաները [1, 3, 5]: Հատկապես ճնշվում է միտոքոնդրիումների ներքին թաղանթի էլեկտրական դիմադրողականությունը, և տեղի է ունենում փեղկելում շնչառության և ԱԵՖ-ի սինթեզի միջև [6, 7, 9]: Թթվածնի ակտիվ ձևերը միտոքոնդրիումներում կարող են խաթարել նաև դրանց մոտ տեղակայված ԴՆԹ-ի ֆունկցիան [8, 11, 12]:

Լիպիդների գերօքսիդացման պրոցեսի ակտիվացմանը օրգանիզմում դիմակայում է բջիջների հակաօքսիդանտային համակարգը: Հակաօքսիդանտային համակարգի գործոնները բազմազան են [6, 7]: Ներկայացված աշխատանքում ուսումնասիրվել է Մոսկվայի Մ. Վ. Լոմոնոսովի անվան պետական համալսարանի Ա. Բելոզերսկու անվան ֆիզիկաքիմիական կենսաքանության ինստիտուտում ակադեմիկոս Վ. Սկովաչովի կողմից սինթեզված պլաստոքինոնի ածանցյալ, հակաօքսիդանտային մեծ ակտիվությամբ օժտված SkQ1-ի տարբեր չափաբաժինների ազդեցությունը Mg^{2+} , Ca^{2+} և HCO_3^- -կախյալ ԱԵՖազների ակտիվության վրա հասակային առումով՝ 3 և 6 ամսական առնետների գլխուղեղից և սրտամկանից անջատված ամբողջական միտոքոնդրիումներում in vitro պայմաններում:

Հերազդրության մեթոդները և նյութերը:

Փորձերում օգտագործվել են 3 և 6 մմսական ոչ գծային սպիտակ առնետներ: Համեմատության համար փորձերում օգտագործվել են SkQ1-ի $1.75 \times 10^{-8} \text{ M}$ և $1.75 \times 10^{-4} \text{ M}$ չափաբաժինները: Ելնելով դրանից՝ առանձնացվել են փորձանմուշների 3 խումբ.

1.ստուգիչ խումբ (առանց SkQ1-ի ավելացման),

2.փորձանմուշներում ավելացվել է 0.1 մլ վերջնական խտությամբ $1.75 \times 10^{-8} \text{ M}$ SkQ1,

3.փորձանմուշներում ավելացվել է 0.1 մլ վերջնական խտությամբ $1.75 \times 10^{-4} \text{ M}$ SkQ1:

Կենդանիների գլխատումից հետո հանել ենք գլխուղեղը և սրտամկանը: Գլխուղեղը լվացել ենք 0.25 M սախարոզա-տրիս-HCl սառը բուֆերի լուծույթով ($\text{pH } 7.4$), իսկ սրտամկանը՝ KCl-ի 0.1 M լուծույթով: Գլխուղեղի հյուսվածքը հոմոգենացրել ենք 0.25 M սախարոզայի և 0.02 M տրիս-HCl բուֆերի լուծույթում 3°C -ի պայմաններում $1:8$ կամ $1:9$ հարաբերությամբ: Սրտամկանը հոմոգենացրել ենք 0.44 M սախարոզա- 0.02 M տրիս-HCl բուֆերում: Գլխուղեղի հոմոգենատից կորիզային ֆրակցիան անջատել ենք 800 g , իսկ միտոքոնդրիումները՝ 18000 g արագությամբ 15 րոպե տևողությամբ ցենտրիֆուգելով: Սրտամկանի հոմոգենատից կորիզները անջատել ենք 800 g , իսկ միտոքոնդրիումները՝ 10000 g արագությամբ 15 րոպեի ընթացքում ցենտրիֆուգելով: Գլխուղեղից ստացված միտոքոնդրիումները սուսպենզել ենք 0.25 M սախարոզա-տրիս-HCl բուֆերում, իսկ սրտամկանինը՝ 0.44 M սախարոզա-տրիս-HCl բուֆերում և կրկին ցենտրիֆուգել:

ԱԵՖազների ակտիվության որոշման համար ինկուբացիոն խառնուրդը (1 մլ) պարունակել է 0.25 M սախարոզա- 0.02 M տրիս-HCl բուֆեր, համապատասխան քանակներով Mg^{2+} , Ca^{2+} և HCO_3^- և միտոքոնդրիումների կախույթ, որը համապատասխանել է 2-3 մգ սպիտակուցի: Ավելացվել է նաև 2 մլ M ԱԵՖ (“Sigma”, corp.) [4] և համապատասխան քանակով SkQ1-ի լուծույթ:

Փորձանմուշների ինկուբացումը կատարվել է 30 րոպե տևողությամբ 37°C -ի պայմաններում:

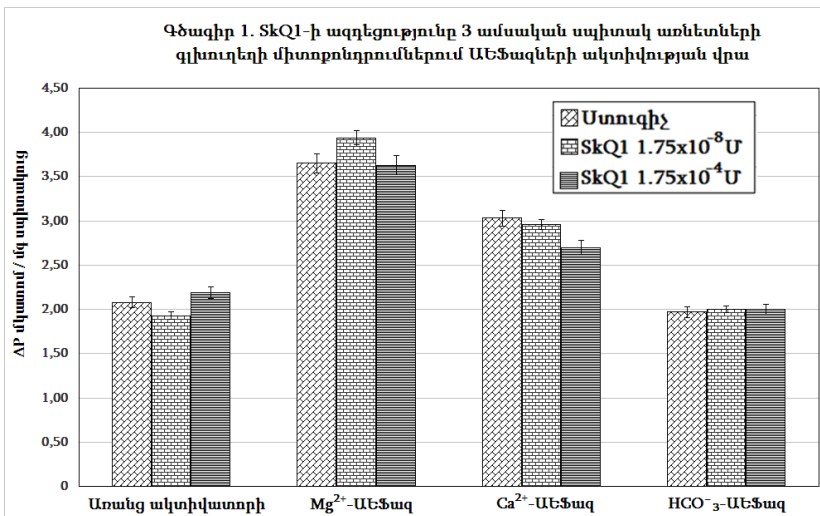
Անօրգանական ֆոսֆատի որոշումը կատարվել է Լոուրիի և Լոպեսի եղանակով [10]: Փորձերից ստացված տվյալները հաշվարկվել են 1 մգ սպիտակուցի վրա, որը կատարվել է Լոուրիի և աշխ. եղանակով [10]:

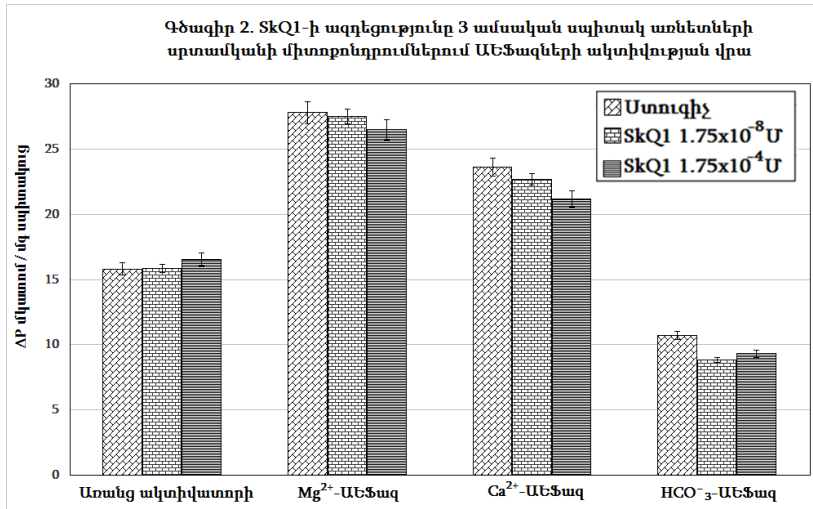
Ստացված տվյալների հավաստիությունը որոշել ենք Ստյուդենտ-Ֆիշերի տասնորդական վարիացիոն վիճակագրության մեթոդով [2]:

Հետազոտության արդյունքները և դրանց քննարկումը:

Կատարված հետազոտություններից ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ 3 ամսական առնետների գլխուղեղից անջատված միտոքոնդրիումներում SkQ1-ի տարբեր չափաբաժինները միանման ազդեցություն Աեֆազային ակտիվության վրա չեն դրսևորում (գծ. 1): SkQ1-ի $1.75 \times 10^{-8} \text{ M}$ չափաբաժնի ավելացման դեպքում ընդհանուր և Ca^{2+} -կախյալ Աեֆազների ակտիվությունը ճնշվում է, իսկ Mg^{2+} - և HCO_3^- -կախյալ Աեֆազներին՝ որոշ չափով խթանվում: SkQ1-ի $1.75 \times 10^{-4} \text{ M}$ չափաբաժնի ավելացման դեպքում ընդհանուր և HCO_3^- -կախյալ Աեֆազների ակտիվությունը խթանվում է, իսկ Mg^{2+} - և Ca^{2+} -կախյալ Աեֆազներին՝ ճնշվում:

Փորձի նույն պայմաններում 3 ամսական առնետների սրտամկանից անջատված միտոքոնդրիումներում SkQ1-ի տարբեր չափաբաժինները Աեֆազային ակտիվության վրա նույնպես տարբեր ներգործություն ունեն (գծ. 2): SkQ1-ի $1.75 \times 10^{-8} \text{ M}$ չափաբաժնի ազդեցությամբ ընդհանուր և Mg^{2+} -կախյալ Աեֆազների ակտիվությունը գրեթե չի փոփոխվել, իսկ Ca^{2+} - և HCO_3^- -կախյալ Աեֆազների ակտիվությունը ճնշվել է: SkQ1-ի $1.75 \times 10^{-4} \text{ M}$ չափաբաժնի դեպքում ընդհանուր Աեֆազային ակտիվությունը որոշ չափով խթանվել է, իսկ Mg^{2+} -, Ca^{2+} - և HCO_3^- -կախյալ Աեֆազների ակտիվությունը ճնշվել է:

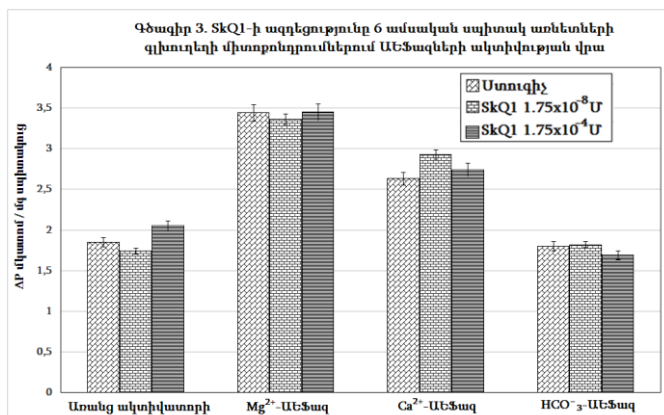




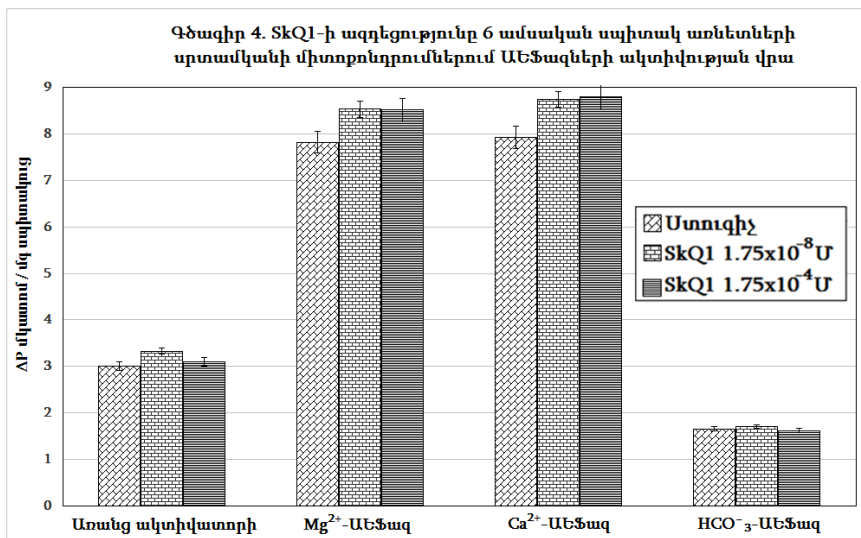
Ելնելով մեր աշխատանքի նպատակից՝ մենք 6 ամսական սպիտակ առնետների գլխուղեղի և սրտամկանի հյուսվածքներից անջատված միտոքոնդրիումներում *in vitro* պայմաններում հետազոտել ենք ԱԵՖազային ակտիվության առանձնահատկությունների կախվածությունը SkQ1-ի չափաբաժնից:

Ինչպես 3 ամսական սպիտակ առնետների դեպքում, այնպես էլ այս տարիքային խմբում ընդհանուր, Mg²⁺-, Ca²⁺- և HCO₃⁻-կախյալ ԱԵՖազների կատալիտիկ ակտիվության վրա SkQ1-ի տարբեր չափաբաժինները դրսևորում են ոչ միանման ազդեցություն (գծ. 3 և 4):

Համաձայն հետազոտության արդյունքների՝ 6 ամսական սպիտակ առնետների գլխուղեղի հյուսվածքներից ստացված միտոքոնդրիումներում SkQ1-ի $1.75 \times 10^{-8} \text{ U}$ չափաբաժնի դեպքում ընդհանուր և Mg²⁺-կախյալ ԱԵՖազների ակտիվությունը ճնշվում է, Ca²⁺-կախյալ ԱԵՖազներինը՝ խթանվում, իսկ HCO₃⁻-կախյալ ԱԵՖազներինը մնում է գրեթե անփոփոխ (գծ. 3): SkQ1-ի $1.75 \times 10^{-4} \text{ U}$ չափաբաժնի դեպքում դիտվում է ընդհանուր և Ca²⁺-կախյալ ԱԵՖազների ակտիվության խթանում, HCO₃⁻-կախյալ ԱԵՖազների ակտիվության ճնշում: Պատկերն այլ է Mg²⁺-կախյալ ԱԵՖազների դեպքում՝ ֆերմենտի ակտիվության փոփոխություն գրեթե չի գրանցվում:



Փորձի նույն պայմաններում հետազոտել ենք նաև 6 ամսական առնետների սրտամկանից անջատված միտոքոնդրիումներում Աեֆազային ակտիվության առանձնահատկությունները: Այդ դեպքում ևս SkQ1-ի տարբեր չափաբաժինները Աեֆազային ակտիվության վրա դրսևորում են ոչ միանման ազդեցություն (գծ. 4): SkQ1-ի $1.75 \times 10^{-8} \text{ U}$ չափաբաժնի դեպքում դիտվում է ընդհանուր, Mg²⁺-, Ca²⁺- և HCO₃⁻-կախյալ Աեֆազների ակտիվության աճ: SkQ1-ի $1.75 \times 10^{-4} \text{ U}$ չափաբաժնի դեպքում պատկերն այլ է: Ընդհանուր, Mg²⁺- և Ca²⁺-կախյալ Աեֆազների դեպքում դիտվում է ակտիվության աճ, իսկ HCO₃⁻-կախյալ Աեֆազների դեպքում ֆերմենտի ակտիվության փոփոխություն գրեթե չի գրանցվում:



ա6 ամսական առնետների գլխուղեղից անջատված միտոքոնդրիումներում ԱԵՖազային ակտիվությունը 3 ամսականների համեմատությամբ որոշ չափով ճնշվել է: ԱԵՖազային ակտիվության ոչ մեծ տարբերություն դիտվում է ոչ միայն ստուգիչ խմբում ուսումնասիրված տարբեր ԱԵՖազների դեպքում, այլև SkQ1-ի տարբեր չափաբաժիններ ստացած խմբերում:

Սրտամկանից անջատված միտոքոնդրիումներում ԱԵՖազային ակտիվությունը 3 ամսական առնետների մոտ, ի տարբերություն գլխուղեղի միտոքոնդրիումների տվյալների, զգալիորեն խթանվել է 6 ամսականների համեմատությամբ: Ընդհանուր ԱԵՖազային ակտիվությունը 3 ամսական առնետների մոտ ստուգիչ և SkQ1-ի տարբեր չափաբաժիններ ստացած խմբերում գրեթե 5 անգամ ավելի ակտիվ է, քան 6 ամսական առնետների մոտ: Mg^{2+} - և Ca^{2+} -կախյալ ԱԵՖազների դեպքում 3 ամսական առնետների մոտ, 6 ամսականների հետ համեմատած, ԱԵՖազային ակտիվության աճը կազմել է համապատասխանաբար 4 և 3 անգամ: HCO_3^- -կախյալ ԱԵՖազների դեպքում գրանցվել է ԱԵՖազային ակտիվության ամենաբարձր ցուցանիշը՝ գրեթե 6 անգամ:

Փաստորեն, հասակային առումով փորձակենդանիների մոտ դիտվում է մեր ուսումնասիրած ֆերմենտների կատալիտիկ ակտիվության տարբերություններ:

Այսպիսով, կատարած հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ *in vitro* պայմաններում 3 և 6 ամսական առնետների գլխուղեղից և սրտամկանից անջատված միտոքոնդրիումներում ընդհանուր, Mg^{2+} -, Ca^{2+} - և HCO_3^- -կախյալ ԱԵՖազների ակտիվության վրա SkQ1-ի տարբեր չափաբաժինները դրսևորում են ոչ միանման ազդեցություն: Գլխուղեղից անջատված միտոքոնդրիումներում հասակային առումով ԱԵՖազային ակտիվության ոչ մեծ տարբերություն դիտվում է ինչպես ստուգիչ խմբում ուսումնասիրված տարբեր ԱԵՖազների դեպքում, այնպես էլ SkQ1-ի տարբեր չափաբաժիններ ստացած խմբերում: Սրտամկանի հյուսվածքից անջատված միտոքոնդրիումներում ԱԵՖազային ակտիվությունը 3 ամսական առնետների մոտ համեմատաբար բարձր է, քան 6 ամսականների մոտ:

Քանալի բառեր՝ ԱԵՖազներ, SkQ1, in vitro, գլխուղեղ, սրտամկան, միտոքոնդրիումներ:

Օգտագործված գրականություն

1. *Խաչատրյան Գ.Ս., Աղաջանով Ի.Մ., Կենսաքիմիա* (դասագիրք բժշկական և կենսաբանական բուհերի ուսանողների, կենսաքիմիկոսների և բժիշկների համար), Երևան, 2001, 679 էջ:
2. *Бессмертный Б.С., Математическая статистика в клинической, профилактической и экспериментальной медицине* // М., 1967.
3. *Бурлакова Е.Б., Роль липидов в передаче информации в клетке* // В сб.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ, М., Наука, 1981, С. 23-25.
4. *Зубер В.Л., Методы биохимических исследований* // Л., 1982, С. 74-87.
5. *Кольман Я., Рем К.Г., Наглядная биохимия* // М., Мир, 2000, 469 стр.
6. *Симонян А.А., Симонян Р.А., Маргарян А.С., Симонян Л.А., Бадалян Р.Б., Гуроглян М.М., Изменения активности Ca^{2+} -зависимой АТФ-фосфогидролазы и влияние антиоксиданта SkQ1 в митохондриях тканей белых крыс при экспериментальных эпилептиформных судорогах.* // Биол. ж. Армении, 2014, Т. 66, (пр.1) С. 78-82.
7. *Симонян А.А., Симонян Р.А., Маргарян А.С., Изменение активности АТФ-фосфогидролазы в митохондриях органов белых крыс под влиянием фактора антиоксидантного действия SkQ1 при эпилептиформных припадках, индуцированных пентилентетразолом* // Доклады НАН РА, 2014, Т. 114(2), С. 136-142.
8. *Скулачев В.П., Попытка биохимиков атаковать проблему старения. Мегапроект по проникающим ионам. Первые итоги и перспективы.* // Биохимия, 2007, Т. 72(12), С. 1385-1396.
9. *Скулачев В.П., Трансформация энергии в биомембранах* // М.: Наука. –1972. – 203 стр.
10. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent.* // J. Biol. Chem., 1951, V. 193, N 1. – P. 265-275.

INFLUENCE OF DIFFERENT DOSES OF DERIVATIVE PLASTOCHINON SkQ1 WITH ANTIOXIDANT ACTION ON ATPases OF MITOCHONDRIA OF THE BRAIN AND THE HEART MUSCLE OF WHITE RATS

A. S. MARGARYAN

Doctor of Biology, Associated Professor

A. A. SIMONYAN

RA Honoured Scientist, Professor

Head of the Chair of Biology

It was shown that during *in vitro* experiments, in the mitochondria isolated from brain and heart muscle tissues of 3 and 6 month old rats, the influence of SkQ1 different doses had ambiguous effect on the studied ATPases activity. In the activity of ATPases, isolated from brain mitochondria, there is no significant difference in the age aspect. There is different assertion in mitochondria of heart muscles: in comparison with the data of 6 months rats ATPases activity is several times higher at 3 months rats.

**ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ДОЗ ПРОИЗВОДНОГО ПЛАСТОХИНОНА SKQ1
АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ НА АКТИВНОСТЬ АТФаз МИТОХОНДРИЙ
МОЗГА И СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ БЕЛЫХ КРЫС**

А. С. МАРГАРЯН

Кандидат биологических наук, доцент

А. А. СИМОНЯН

*Заслуженный деятель науки РА, профессор,
заведующий кафедрой биологии, экологии
и здорового образа жизни ГГУ*

М. Г. ОГАННИСЯН

*Преподаватель кафедры биологии, экологии и здорового образа жизни
ГГУ*

Было показано, что в опытах *in vitro*, в митохондриях, выделенных из тканей мозга и сердечной мышцы 3 и 6 месячных крыс на активность изученных АТФаз разные дозы SkQ1 влияют неоднозначно. В активности АТФаз, выделенных из митохондрий мозга, в возрастном аспекте весомой разницы не наблюдается. Иная картина в митохондриях сердечных мышц: АТФазная активность в несколько раз выше у 3 мес. крыс по сравнению с данными 6 мес. крыс.