

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-163-3-65-69

## Нарушения окислительного фосфорилирования в модели хронической энтеральной недостаточности и их коррекция

Камилова А. Т.<sup>1</sup>, Дустмухамедова Д. Х.<sup>1</sup>, Левицкая Ю. В.<sup>2</sup><sup>1</sup> Республиканский Специализированный Научно Практический Центр Педиатрии, 100174, Ташкент, Узбекистан<sup>2</sup> Центр передовых технологий при Министерстве инновационного развития Республики Узбекистан, 100174, Ташкент, Узбекистан

## Disorders of oxidative phosphorylation in the model of chronic enteral insufficiency and their correction

A. T. Kamilova<sup>1</sup>, D. H. Dustmuhamedova<sup>1</sup>, Yu. V. Levickaya<sup>2</sup><sup>1</sup> Republican Specialized Scientific and Practical Medical of Pediatrics, 100174 Tashkent, Uzbekistan<sup>2</sup> Center of Advanced Technologies under the Ministry of Innovation Development of the Republic of Uzbekistan, 100174 Tashkent, Uzbekistan

**Для цитирования:** Камилова А. Т., Дустмухамедова Д. Х., Левицкая Ю. В. Нарушения окислительного фосфорилирования в модели хронической энтеральной недостаточности и их коррекция. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019;163(3): 65–69. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-163-3-65-69

**For citation:** Kamilova A. T., Dustmuhamedova D. H., Levickaya Yu. V. Disorders of oxidative phosphorylation in the model of chronic enteral insufficiency and their correction. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;163(3): 65–69. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-163-3-65-69

**Камилова Алтиной Турсунбаевна**, д.м.н., профессор, руководитель отдела гастроэнтерологии

**Дустмухамедова Динора Хамидовна**, младший научный сотрудник отдела гастроэнтерологии

**Левицкая Юлия Владимировна**, к.м.н., учёный секретарь

Altinoy T. Kamilova, MD, professor, Head of the Department of gastroenterology, Scopus ID: 6603459264

Dinora Kh. Dustmuhamedova, Junior researcher of the Department of gastroenterology

Yulya V. Levickaya, Scientific Secretary, PhD

✉ **Corresponding author:**

**Дустмухамедова**

**Динора Хамидовна**

Dinora Kh. Dustmuhamedova

dustm1979@mail.ru

### Резюме

**Цель исследования.** Изучить состояние окислительного фосфорилирования в модели хронической энтеральной недостаточности у растущих крыс и оценить эффективность экдистена в их коррекции.

**Материалы и методы исследования.** В опытах были использованы лабораторные белые беспородные крысы. Животные были разделены на 3 группы. 1 группа — здоровые животные (контроль). 2 группа — животные находившиеся на диете, бедной белками (хроническое недоедание), 3 группа — животные, получавшие в качестве корректирующего препарата экдистен.

Митохондрии выделяли из печени 40-дневных крысят методом дифференциального центрифугирования. Определяли параметры окислительного фосфорилирования, скорость дыхания изолированных митохондрий в метаболическом состоянии  $V_4$  и  $V_3$ , а также величины дыхательного контроля и АДФ/О.

**Результаты.** Лечение крысят с белковым дефицитом в течение 10 дней препаратом экдистен привело к значительному росту массы тела крысят — в среднем на 45,5% — и к 10 дню лечения эта величина составляла 71% от значений в контрольной группе ( $P < 0,01$ ). В группе животных, находившихся на диете, бедной белками показатели окислительного фосфорилирования были значительно снижены. Скорость потребления кислорода суспензией митохондрий в функциональном состоянии  $V_3$  и  $V_4$  у больных животных была практически в 2 раза меньше, чем у контрольных животных. Дыхательный контроль, в группе больных животных был снижен на 20%. Отношение АДФ/О было также снижено и составляло 2,5 против 2,8 в контрольной группе.

При использовании в качестве корректирующего препарата экдистена состояние  $V_3$  имело значение 93,72,  $V_4$  — 15,62, а  $V_{dnf}$  — 109,34 нг ат О/мин/мг белка ( $P < 0,001$ ). Значение дыхательного контроля также было близко к контрольному и равнялось 6, а отношение АДФ/О даже несколько превышало контрольное значение и равнялось 3,03 ( $P < 0,05$ ).

**Заключение.** Нами выявлено выраженное разобщение дыхательной цепи в суспензии митохондрий при содержании животных на диете, бедной белками, а также о наличии яркого корректирующего эффекта у препарата экдистен. Анализ терапевтического эффекта экдистена позволил выявить ярко выраженные его способности корректировать проявления хронической энтеральной недостаточности у растущих крыс.

**Ключевые слова:** Хроническая энтеральная недостаточность, окислительное фосфорилирование, митохондрии, фитоэкдистероид, экдистен

## Summary

**Aim.** To study the state of oxidative phosphorylation in a model of chronic enteral insufficiency in the growing rats and to assess the effectiveness of ecdystene in their correction.

**Materials and methods.** Laboratory white mongrel rats were used in the experiments. The animals were divided into 3 groups. 1 group — healthy animals (control). Group 2 — animals on a diet poor in protein (chronic malnutrition), group 3 — animals that received as a corrective drug ecdystene.

Mitochondria were isolated from the liver of 40-day-old rats by differential centrifugation. The parameters of oxidative phosphorylation, respiration rate of isolated mitochondria in the metabolic state V4 and V3, as well as the values of respiratory control and ADP / O were determined.

**Results.** Treatment of rats with protein deficiency for 10 days with the drug ecdystene resulted in a significant increase in the body weight of the rats — an average of 45.5% — and by the 10th day of treatment this value was 71% of the values in the control group ( $P < 0.01$ ). In the group of animals that were on a diet poor in proteins, the oxidative phosphorylation parameters were significantly reduced. The rate of oxygen consumption by the mitochondrial suspension in the functional state of V3 and V4 in sick animals was almost half that in control animals. Respiratory control, in the group of sick animals was reduced by 20%. The ratio of ADP / O was also reduced and was 2.5 vs 2.8 in the control group.

When using a corrective ecdystene preparation as a quality, the V3 state was 93.72, V4 was 15.62, and Vdnf was 109.34 ng at O / min / mg protein ( $P < 0.001$ ). The value of the respiratory control was also close to the control and was 6, and the ratio of ADP / O even slightly exceeded the control value and was 3.03 ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion.** We detected a pronounced disconnection of the respiratory chain in the mitochondrial suspension when the animals were kept on a diet poor in proteins and also had a bright corrective effect in the ecdystene. The therapeutic effect of ecdystene revealed its pronounced ability to correct manifestations of chronic enteric insufficiency in growing rats.

**Keywords:** Chronic enteral insufficiency, oxidative phosphorylation, mitochondria, phytoecdysteroid, ecdystene

## Введение

В механизмах хронической энтеральной недостаточности лежат метаболические изменения, приводящие к гипоксии и атрофии слизистой кишечника [1]. Изменяется структура слизистой оболочки тонкой кишки, снижается высота ворсинок, углубляются крипты, повышается соотношение ворсинка-крипта [2].

Известно, что реализация многих заболеваний происходит на уровне клетки и во многом определяется функцией органелл. В частности, расширяется круг доказательств важной роли митохондриальной недостаточности в патогенезе расстройств различных органов и систем [3–9].

В настоящее время продолжают попытки выявления новых звеньев патогенеза энтеральной недостаточности и разработки патогенетических подходов к лечению этой тяжелой патологии [2, 10, 11, 12].

Однако проблема далека от решения, о чем свидетельствуют внушительные цифры неблагоприятных исходов, что и стимулирует продолжение поиска эффективных способов лечения.

В качестве модуляторов энергетического обмена интерес представляют исследования отечественных исследователей по использованию фитоэкдистероидов, в частности экдистена, выделенных из левзеи софлоровидной и живучки туркестанской на биоэнергетику клеток печени в условиях гепатита, характеризующегося, прежде всего резкими изменениями функционирования митохондрий [13]. Было выявлено положительное влияние фитоэкдистероидов на скорость дыхания, окислительное фосфорилирование и активность полиферментных систем митохондрий печени крыс в условиях гепатита. В связи с чем изучение влияния фитоэкдистероидов на нормализацию митохондриальной дисфункции при энтеральной недостаточности у детей представляется перспективным направлением педиатрии.

**Цель исследования.** Изучить состояние окислительного фосфорилирования в модели хронической энтеральной недостаточности у растущих крыс и оценить эффективность экдистена в их коррекции.

## Материалы и методы исследования

В опытах были использованы лабораторные белые беспородные крысы, выращенные в условиях вивария Национального Университета Узбекистана. Животные были разделены на 3 группы. 1 группа – здоровые животные (контроль). 2 группа – животные находившиеся на диете, бедной белками (хроническое недоедание), 3 группа – животные,

получавшие в качестве корректирующего препарата экдистен.

Митохондрии были выделены из печени 40-дневных крысят методом дифференциального центрифугирования по Шнейдеру [14]. Измерение параметров окислительного фосфорилирования и скорости дыхания митохондрий производили

при помощи полярографа LP-7 (Чехия) с использованием закрытого платинового электрода Кларка [15]. Скорость дыхания изолированных митохондрий в метаболическом состоянии  $V_4$  (состояние покоя) и  $V_3$  (дыхание, активированное добавлением

АДФ), а также величины дыхательного контроля и АДФ/О определяли по методу Чанса [16].

Графическая и статистическая обработка результатов проводилась на IBM-совместимом компьютере с использованием программы Origin 6.

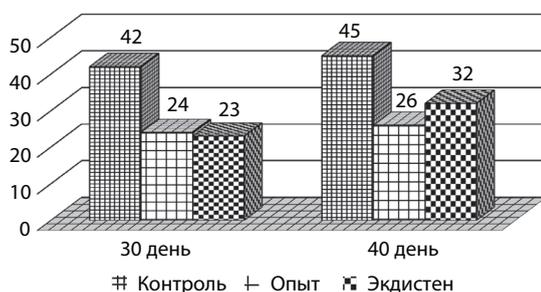
## Результаты

Лечение крысят с белковым дефицитом в течение 10 дней препаратом экдистен привело к значительному росту массы тела крысят – в среднем на 45,5% – и к 10 дню лечения эта величина составляла 71% от значений в контрольной группе (средняя масса в опытной группе составляла 57,8% от контроля) ( $P < 0,01$ ) (рис 1,2).

В группе животных, находившихся на диете, бедной белками показатели окислительного фосфорилирования были значительно снижены. Наиболее значительные отличия были зарегистрированы при использовании в качестве субстратов глутамата и малата, в то время как при использовании в качестве субстрата сукцината различия были не столь существенны. Как видно из рис 3 скорость потребления кислорода суспензией митохондрий в функциональном состоянии  $V_3$  у больных животных была практически в 2 раза меньше, чем у контрольных животных (64,15 нг ат О/мин/мг белка по сравнению с 121,2 в контрольной группе) ( $P < 0,001$ ). Скорость потребления кислорода в состоянии  $V_4$  также была снижена и составляла 13,27 нг ат М/мин/мг белка в группе больных животных, в то время как в контроле скорость равнялась 19,7 нг ат О/мин/мг белка. К тому же, соотношение скоростей потребления кислорода в состояниях  $V_3$  и  $V_4$  в группе больных животных свидетельствует о разобщении окислительного фосфорилирования за счет увеличения проницаемости мембраны митохондрий.

При добавлении классического разобщителя окислительного фосфорилирования 2,4-динитрофенола было также получено подтверждение разобщения митохондрий – в контрольной группе этот показатель равнялся 123,9, а в группе больных животных – только 56,07 нг ат О/мин/мг белка. Дыхательный контроль, являющийся показателем функциональной интактности митохондрий, в группе контрольных животных равнялся 6,15, в то время как в группе больных животных этот показатель был снижен на 20% и составлял 4,8. Отношение АДФ/О было также снижено и составляло 2,5 против 2,8 в контрольной группе (Рис3).

При использовании в качестве корректирующего препарата экдистена было обнаружено, что практически все показатели окислительного фосфорилирования приближались к контрольным значениям. Так, состояние  $V_3$  имело значение 93,72,  $V_4$  – 15,62, а  $V_{dnf}$  – 109,34 нг ат О/мин/мг белка ( $P < 0,001$ ). Стимулирующее действие разобщителя на скорость потребления кислорода суспензией митохондрий свидетельствует о восстановлении сопряжения в дыхательной цепи. Значение дыхательного контроля также было близко к контрольному и равнялось 6, а отношение АДФ/О даже несколько превышало контрольное значение и равнялось 3,03. В целом, полученные данные свидетельствуют о несомненном положительном корректирующем эффекте экдистена.

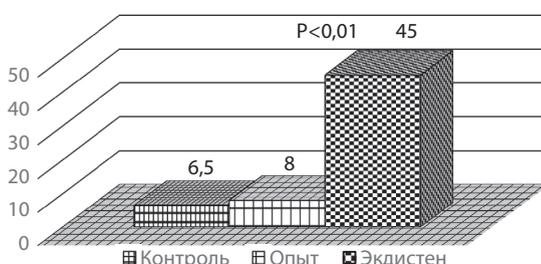


**Рисунок 1.**

Влияние лекарственных препаратов на вес животных. Взвешивание проводилось на 40 день после рождения

Figure 1.

The effect of drugs on the weight of animals. Weighing held on the 40th day after birth



**Рисунок 2.**

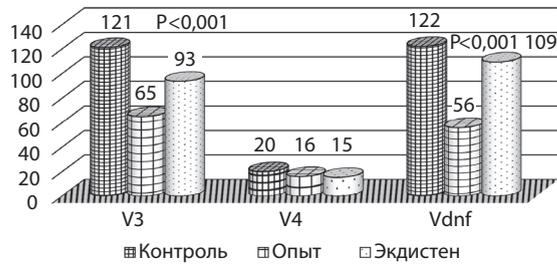
Прирост массы тела животных с 30-го по 40-й день жизни. Вес животных в каждой группе на 30-й день принят за 100%.

Figure 2.

The increase in body weight of animals from the 30th to the 40th day of life. The weight of animals in each group on the 30th day is taken as 100%.

**Рисунок 3.**  
Влияние экдистена на скорость потребления кислорода суспензией митохондрий печени крыс.

**Figure 3.**  
The effect of ecdysten on the rate of oxygen consumption by a suspension of rat liver mitochondria.



**Рисунок 4.**  
Влияние экдистена на состояние окислительного фосфорилирования митохондрий печени крыс.

**Figure 4.**  
The effect of ecdysten on the state of oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria.



## Обсуждение

Наши исследования продемонстрировали глубокие нарушения окислительного фосфорилирования в модели энтеральной недостаточности у растущих крыс. В экспериментах было обнаружено, что дефицит белка в питании вызывает снижение активности митохондриальной дыхательной цепи, особенно I комплекса.

Примерно такие же результаты были получены при экспериментальных исследованиях Nieto N и соавт. [9]. Цель проведенного ими исследования состояла в том, чтобы оценить влияние серьезного недоедания белка на антиокислительную систему защиты в тонкой и толстой кишке крыс. Результаты показали, что хроническая диарея и серьезное недоедание белка способствовали подавлению антиокислительной системы защиты как в тонкой так и в толстой кишке, которая может играть важную роль в патогенезе данной патологии и поддержании порочного круга malabsorption-diarrhea-malnutrition в младенчестве.

Исследованиями Francoise Briet и др. [17] установлено снижение активности I комплекса

дыхательной цепи у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника на фоне недостаточности питания. Авторы предполагают, что митохондриальная недостаточность I комплекса дыхательной цепи, установленная в мононуклеарах периферической крови является маркером недостаточности питания.

Описание случая атрофии слизистой тонкой кишки у пятимесячного младенца приводят Vonnemains C и соавт. [18]. Диета без молока и глютена была не эффективной, но исследование активности I, III и V комплексов дыхательной цепи была резко снижена, что свидетельствует о сопоставимости митохондриального истощения с энтеральной недостаточностью.

Нами впервые установлен эффект экдистена корректировать проявления нарушения окислительного фосфорилирования в модели хронической энтеральной недостаточности, которые отражались и на улучшении пищеварительных процессов в организме, что проявлялось значительным приростом веса у испытуемых животных.

## Выводы

Полученные данные свидетельствуют о явном разобщении дыхательной цепи в суспензии митохондрий при содержании животных на диете, бедной белками, а также о наличии яркого корректирующего

эффекта у препарата экдистен. Анализ терапевтического эффекта фитоэкдистероида позволил выявить ярко выраженные способности экдистена корректировать проявления данной патологии.

## Литература | References

1. Попова, Т. С. Нутритивная поддержка больных в критических состояниях/ Т. С. Попова, А. Е. Шестопалов, Т. Ш. Тамазашвили, И. Н. Лейдерман//М.: ООО «Издат.дом «М-Вести», 2002.-320 с.: ил.36  
Popova T. S., SHestopalov A.E., Tamazashvili T.SH., Lejderman I. N. Nutritivnaya podderzhka bol'nyh v kriticheskikh sostoyaniyah [Nutritional support for critically ill patients]. М. ООО «Izdat.dom «M-Vesti», 2002.-320 p., pic.36.
2. Чубарова А.И., Мухина Ю.Г., Слабука Н.В., Лысков Ю.А. Морфологические показатели различных отделов кишечника у детей первого года жизни при

- пострезекционном синдроме/ Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология – 2010. – № 1. – 64–70
- Chubarova Ai, Mukhina Y. G., Slabuka N. V., Lysikov Yu. A.* Morphological indicators of different intestinal departments in children of the first year of life in postrescent syndrome. *Experimental and Clinical Gastroenterology Journal*. 2010, no.1, pp. 64–70/
3. Алямовская Г. А. Вторичная карнитиновая недостаточность у недоношенных детей с массой тела при рождении менее 1500 г. в патогенезе энергетического дефицита на первом-втором году жизни и возможности ее коррекции / Г. А. Алямовская, И. В. Золкина, Е. С. Кешишян // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2012. – Т. 4, № 2. – С. 126–131  
*Alyamovskaya G. A., Zolkina I. V., Keshishyan E. S.* Vtorichnaya karnitinovaya nedostatochnost' u nedonoshennyh detej s massoj tela pri rozhdenii menee 1500 g. v patogeneze ehnergeticheskogo deficita na pervom-vtorom godu zhizni i vozmozhnosti ee korrekcii. [Secondary carnitine deficiency in premature babies with birth weight less than 1500, in the pathogenesis of energy deficit in the first or second year of life and the possibility of its correction]. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics)*. 2012;4(2):126–131.
  4. Бельских Э. С. Современные представления о патогенезе и подходах к коррекции митохондриальной дисфункции / Э. С. Бельских, В. И. Звягина, О. М. Урясьев // Наука молодых – EruditioJuvanium. – 2016. – № 1. – С. 104–112.  
*Bel'skih E.H.* Sovremennye predstavleniya o patogeneze i podhodah k korrekcii mitohondrial'noj disfunkcii / E.H. S. Bel'skih, V.I. Zvyagina, O.M. Uryas'ev // *Nauka molodyh – EruditioJuvanium*. 2016, no. 1, pp. 104–112.
  5. Вторичная митохондриальная дисфункция при остром коронарном синдроме / Ю. А. Васюк, К. Г. Куликов, О. Н. Кудряков [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2007. – № 1. – С. 41–47.  
*Vtorichnaya mitohondrial'naya disfunkciya pri ostrom koronarnom syndrome / YU. A. Vasyuk, K. G. Kulikov, O. N. Kudryakov [i dr.] // Racional'naya farmakoterapiya v kardiologii*. 2007, no. 1, pp. 41–47.
  6. Зиганшина А. А. Гастроинтестинальные проявления митохондриальной дисфункции / А. А. Зиганшина // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – Т. 61, № 6. – С. 38–42.  
*Ziganshina A. A.* Gastrointestinal'nye proyavleniya mitohondrial'noj disfunkcii / A. A. Ziganshina // *Rossiyskiy vestnik perinatologii i peditrii*. 2016, vol. 61, no. 6, pp. 38–42.
  7. Клинический полиморфизм митохондриальной дисфункции у детей / О. В. Глоба, Н. В. Журкова, О. Б. Кондакова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2008. – № 4. – С. 52–53.  
*Globa O. V., Zhurkova N. V., Kondakova O. B., et al.* Klinicheskij polimorfizm mitohondrial'noj disfunkcii u detej [Clinical polymorphism of mitochondrial dysfunction in children]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education]. 2008, no. 4, pp. 52–53.
  8. Клиническое значение оценки показателей карнитинового обмена при кардиомиопатиях у детей / И. В. Леонтьева, Е. Г. Алимина, И. А. Золкина [и др.] // Практика педиатра. – 2012. – Т. 4, № 2. – С. 74–79.  
*Leont'eva I. V., Alimina E. G., Zolkina I. A. et al.* The clinical significance of carnitine metabolism in children with cardiomyopathy. *Praktika peditra [Pediatrician practice]*. – 2012. – Т. 4, № 2. – С. 74–79.
  9. *Natalia Nieto, PhD,\* Mar'ia Dolores Mesa, PhD,\* Jos'eMari'a Lo'pez-Pedrosa, PhD,\* M. Isabel Torres, PhD,†AntonioRi'os, PhD,‡ Mari'a Dolores sua' rez, PhD,\*and A'ngel Gil, PhD\** Digestive Diseases and Sciences, Vol. 52, No. 6 (June 2007), pp. 1485–1496 (C\_2007) DOI: 10.1007/s10620-007-8100-9 Contribution of Polyunsaturated Fatty Acids to Intestinal Repair in Protein-Energy Malnutrition
  10. *Giguere-Rich C, Mathew A, Reid E, Autore K, Guill MF.* JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2018 Jan;42(1):225–230. doi: 10.1002/jpen.1011. Epub 2017 Dec 13. Single-Center Experience with the Use of Teduglutide in Adult Patients with Short Bowel Syndrome.
  11. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2018 Apr 27. Pediatric Intestinal Failure: The Key Outcomes for the First 100 Patients Treated in a National Tertiary Referral Center During 1984–2017.
  12. *Merras-Salmio L, Mutanen A, Ylinen E, Rintala R, Koivusalo A, Pakarinen MP.* NutrClinPract. 2018 Apr;33(2):286–294. doi: 10.1002/ncp.10080. Use of an In-line Digestive Cartridge With Enteral Nutrition Improves the Weight Trajectory of 2 Children With Cystic Fibrosis Complicated by Another Medical Diagnosis.
  13. *Сыров В. Н., Хушбактова З. А., Комарин А. С., Абидов А. Б., Печеницына Т. В., Арипходжаева Ф. А.* / Экспериментально-клиническая оценка эффективности применения эхдистена при лечении гепатита / Экспериментальная и клиническая фармакология 2004 Том 67 № 5 С. 56–59  
*Syrov V. N., Hushbaktova Z. A., Komarin A. S., Abidov A. B., Pechenicyna T. V., Ariphodzhaeva F. A.* EHkspериментal'no-klinicheskaya ocenka ehffektivnosti primeneniya ehkdistena pri lechenii hepatita. *EHkспериментal'naya i klinicheskaya farmakologiya* 2004, Vol. 67, no. 5, pp. 56–59
  14. *Schnelder W.C., Hogeboom G.H.* Ann. Rev. Biochem., 1956. 25. 201
  15. Практикум по биохимии, 1989  
*Praktikum po biohimii*, 1989
  16. *Ленинджер А.* Основы биохимии. Том 3. Пер. с англ. – М.: Мир, 1986. – 368 с. *Leninger A.* Fundamentals of biochemistry. Volume 3. Trans. from English Moscow, Mir, 1986, 368 p.
  17. *Francoise Briet, Clare Twomey, and Khursheed N Jeejeebhoy/ Am J Clin Nutr/* Effect of malnutrition and short-term refeeding on peripheral blood mononuclear cell mitochondrial complex I activity in humans/ 1–3/ 2003;77:1304–11. Printed in USA. © 2003 American Society for Clinical Nutrition
  18. *Bonnemains C, Feillet F.* Diagnosis and management of hyperammonemia. *ArchPediatr*. 2009 Jun;16(6):634–6.