

УДК 576.311:577.352.38

*И. Б. ЗАВОДНИК*

## **ИНГИБИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ЕЕ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ**

*Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь,  
e-mail: zavodnik\_il@mail.ru*

Острая интоксикация крыс четыреххлористым углеродом (4 г/кг) через 24 ч приводит к значительному падению скорости сукцинат- и глутамат-зависимого потребления кислорода (на 65 и 50 % соответственно) митохондриями печени. Коэффициенты акцепторного и дыхательного контроля были равны единице, АДФ/О – нулю, что свидетельствует о нарушении респираторной и синтетической функции митохондрий и развитии энергетического дефицита. Митохондриальные изменения связаны с окислением GSH, со значительным ингибированием сукцинатдегидрогеназы и накоплением оксида азота в плазме крови. Мелатонин (10 мг/кг, троекратно) не защищал митохондрии печени крыс от нарушений функционального состояния при тяжелой интоксикации тетрахлорметаном, но частично восстанавливал скорость фосфорилирующего дыхания  $V_3$ , активность глутатионпероксидазы митохондрий, содержание оксида азота в плазме крови.

*Ключевые слова:* митохондрии, интоксикация, печень, мелатонин, тетрахлорметан, потребление кислорода, оксид азота.

*I. B. ZAVODNIK*

## **INHIBITION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF RAT LIVER MITOCHONDRIA UNDER ACUTE INTOXICATION BY CARBON TETRACHLORIDE**

*Yanka Kupala Grodno State University, Grodno, Belarus, e-mail: zavodnik\_il@mail.ru*

Acute carbon tetrachloride-induced rat liver damage (4 g/kg) after 24 h was accompanied by a significant reduction in succinate- and glutamate-dependent mitochondrial respiration rate in state 3 (by 65 %, and by 50 %, respectively). The acceptor control ratio and respiration control ratio approached to 1, reflecting the loss of respiration control. The mitochondrial alterations were associated with oxidation of intramitochondrial GSH, the inhibition of succinate dehydrogenase (complex II) and the rise of blood plasma nitric oxide level. Melatonin administration under CCl<sub>4</sub>-induced intoxication (three times at doses of 10 mg/kg) did not cause a pronounced recovery of mitochondrial functional activity, but prevented an increase in nitric oxide level in the blood plasma of intoxicated animals and enhanced the rate of succinate oxidation in state 3 by 30 % ( $p < 0.05$ ).

*Keywords:* mitochondria, intoxication, liver, melatonin, carbon tetrachloride, respiration, nitric oxide.

**Введение.** Митохондрии играют критическую роль в координации важнейших функций клетки, поскольку служат не только источником энергетических эквивалентов, но и объектом, декодером и коммутатором внутриклеточных сигналов, регулятором кальциевого гомеостаза, генератором вторичных мессенджеров и проапоптотических факторов [1]. Их электронтранспортная цепь является основным генератором свободных радикалов и одновременно, как и ферменты цикла Кребса, демонстрирует высокую чувствительность к окислительному стрессу [2]. Дисфункция митохондриального аппарата, вызываемая токсическими и окислительными агентами, провоцирует развертывающуюся различными путями клеточную гибель [3].

В Республике Беларусь отмечен высокий уровень воспалительно-дегенеративных заболеваний печени, имеющий устойчивую тенденцию к росту (стеатогепатиты, фиброз/цирроз). Портальная локализация печени определяет метаболизм ксенобиотиков в организме [4], митохондрии гепатоцитов служат первичной мишенью гепатотоксинов [5]. Повреждение этих субклеточных орга-

нелл в одной из тканей оказывает влияние на весь организм посредством секретирования сигнальных молекул [6]. В настоящее время для определения молекулярной патологии процессов окислительного фосфорилирования и поиска способов их направленной коррекции в литературе предложен термин «митохондриальная медицина» [7].

Известный токсический агент тетрахлорметан ( $\text{CCl}_4$ ) в течение нескольких десятилетий широко используется для моделирования острых и хронических поражений печени у животных [8–12]. Первичная активация ксенобиотика, образование метаболитов радикальной природы, дисфункция митохондрий, окислительный стресс – начальные этапы развития воспалительно-дегенеративного поражения печени, индуцируемого токсическим агентом [8, 11–13]. Механизм токсического действия галогеналканов (в том числе  $\text{CCl}_4$ ) хорошо известен: он включает жировую дистрофию печени, центральнолобулярный некроз, активацию купферовских клеток, лейкоцитарную инфильтрацию, апоптоз и связан с генерацией оксида азота, свободных радикалов, перекисным окислением мембранных липидов, действием провоспалительных цитокинов, в первую очередь фактора- $\alpha$  некроза опухолей (TNF- $\alpha$ ), интерлейкина- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), транскрипционного фактора NF- $\kappa\text{B}$  [8, 11, 12]. В то же время представляется актуальным выяснение взаимосвязи нарушений биоэнергетической функции гепатоцитов и развития патологии печени, а также поиск препаратов, предотвращающих митохондриальные повреждения. Точное знание молекулярных и клеточных процессов, протекающих при поражениях печени, моделируемых  $\text{CCl}_4$ , позволяет осуществлять целенаправленную разработку эффективных методов лечения [12]. Поиск новых перспективных противотоксических препаратов, защищающих паренхимальные клетки печени, является актуальной проблемой отечественной фармакологии.

Известно, что гормон эпифиза мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин) играет существенную физиологическую роль, синхронизируя и регулируя разнообразные метаболические процессы в организме [14, 15]. Публикации последних лет подтверждают, что мелатонин в фармакологических концентрациях обладает гепатопротекторными свойствами при моделировании острой и хронической интоксикации крыс тетрахлорметаном [9, 10], регулирует обмен липидов при стеатогепатитах [15], предотвращает гистологическое и функциональное повреждение тканей, обусловленное воздействием химиотерапевтических препаратов [16], хроническим потреблением этанола [17], ультрафиолетовым излучением [18], а также эффективен при диабете [19] и целом ряде других патологических состояний. Доказано, в том числе в масштабных клинических испытаниях, что мелатонин (и его метаболиты) следует рассматривать не только в качестве нейроэндокринного гормонального регулятора, но и как перспективное нетоксичное терапевтическое средство [15–22]. Однако механизмы разнообразных благоприятных терапевтических эффектов мелатонина требуют дальнейшего выяснения.

Цель настоящей работы – установить роль нарушений респираторной и синтетической активности митохондрий в развитии токсического поражения печени  $\text{CCl}_4$  и оценить возможность их предотвращения с помощью мелатонина.

**Материалы и методы исследования.** *Реактивы.* В работе использовали токсический агент – тетрахлорметан ( $\text{CCl}_4$ ), антиоксидант – мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин), респираторные субстраты – динатриевую соль янтарной кислоты (сукцинат), натриевую соль L-глутаминовой кислоты (L-глутамат), аденозиндифосфат (АДФ), компоненты среды выделения митохондрий – сахарозу, трис(гидроксиметил)аминометан (Трис-HCl), этилендиаминтетраацетат (ЭДТА), субстраты сукцинатдегидрогеназы – 2,6-дихлорофенол-индофенол (ДХФ) и глутатионпероксидазы – глутатион (GSH), реактив Элмана для определения содержания глутатиона, 5,5'-дитиобис(2-нитробензойную кислоту) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, США, или Steinheim, Германия).

*Экспериментальное моделирование токсического поражения печени* выполняли на крысах-самцах линии Wistar массой 200–240 г, содержащихся на стандартном рационе вивария Института фармакологии и биохимии НАН Беларуси при 12-часовом режиме смены световой (с 8.00) и темновой (с 20.00) фаз суток. Животным вводили тетрахлорметан (в 9.00 однократно внутривентрикулярно (в/ж) в дозе 4 г/кг посредством изготовленного в нашей лаборатории зонда, состоящего из металлической иглы длиной 75 мм и внешним диаметром 1 мм, плавно изогнутой под

углом 30°, и оливы диаметром 2 мм [23] в 50 %-ном растворе оливкового масла в объеме 5 мл/кг и мелатонин (10 мг/кг внутривнутрибрюшинно (в/б) в виде 0,3 %-ного раствора на основе 0,9 %-ного NaCl, содержащего 5 % этанола, в объеме 3,3 мл/кг, трехкратно за 30 мин до и через 2 и 6 ч после инъекции четыреххлористого углерода). Крысы были разделены на 4 группы: контрольная группа получала оливковое масло (в/ж) и физиологический раствор (в/б) в тех же объемах, что и в комбинациях с CCl<sub>4</sub> и мелатонином; вторая группа – мелатонин (в/б) и оливковое масло (в/ж) (группа «Мелатонин»); третья группа – CCl<sub>4</sub> (в/ж) и физиологический раствор (в/б) (группа «CCl<sub>4</sub>»); четвертая – мелатонин (в/б) и CCl<sub>4</sub> (в/ж) (группа «CCl<sub>4</sub> + мелатонин»). В каждую группу входило по 10 особей. Они подвергались декапитации спустя 24 ч после завершения указанных процедур с соблюдением правил Европейской конвенции по защите животных, используемых в научных целях.

*Оценка респираторной активности.* Митохондрии изолировали методом дифференциального центрифугирования [24] в охлажденной до 4 °С среде, содержащей 0,25 М сахарозы, 0,02 М Трис-НCl и 0,001 М ЭДТА, pH 7,2. Митохондриальное дыхание регистрировали полярографически, используя изготовленный в нашей лаборатории электрод Кларка, встроенный в термостатируемую герметическую ячейку объемом 1,25 мл [25]. Суспензию митохондрий (1 мг белка/мл) вносили в ячейку со средой (0,05 М сахароза, 0,01 М Трис-НCl, 0,125 М KCl, 2,5 мМ KН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub>, 5 мМ MgSO<sub>4</sub>, 0,5 мМ ЭДТА, pH 7,5), затем вводили субстраты дыхания (сукцинат – 5 мМ либо L-глутамат – 5 мМ, малат – 2 мМ) и АДФ (180 мкМ). Скорость потребления кислорода измеряли непосредственно после внесения субстратов при 25 °С. Рассчитывали скорости дыхания органелл в различных метаболических состояниях (выражали в нанограмм-атомах кислорода, потребляемого в расчете на 1 мг белка за 1 мин): при их субстрат-иницировании ( $V_2$ ), АДФ-стимулировании на фоне внесенного субстрата ( $V_3$ ) и после расходования внесенного АДФ ( $V_4$ ). Сопряженность процессов окисления и фосфорилирования оценивали по коэффициентам акцепторного контроля ( $AK = V_3/V_2$ ), дыхательного контроля ( $DK = V_3/V_4$ ) и фосфорилирования (АДФ/О).

*Биохимические измерения.* Активность глутатиопероксидазы регистрировали по скорости окисления GSH по методу Martinez и др. [26], активность сукцинатдегидрогеназы – по скорости восстановления 2,6-дихлорфенолиндофенола в митохондриях, разрушенных замораживанием-оттаиванием [27]. Содержание восстановленного GSH определяли в суспензии изолированных митохондрий по методу Элмана [28], уровень смешанных дисульфидов GSH с белками (GSSP) – по методу Rossi и др. [29]. Концентрацию NO (как суммарное содержание нитритов и нитратов) в плазме крови измеряли с использованием реагента Грисса [30]. Активности АлТ и АсТ, уровень билирубина в гепаринизированной плазме крови крыс измеряли наборами реагентов (Piva-Lacheta, Чехия). Содержание белка в митохондриях оценивали по методу Lowry и др. [31].

*Статистический анализ.* Данные 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. Различия рассматривали как достоверные при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Острый токсический эффект CCl<sub>4</sub> оценивали по резкому возрастанию в плазме крови животных активности маркерных ферментов поражения печени АлТ и АсТ, уровня общего билирубина (спустя 12 ч – в 3 раза, через 24 ч – в 8 раз), концентрации оксида азота (табл. 1). Введение мелатонина на фоне острой интоксикации CCl<sub>4</sub> спустя 24 ч не предотвращало повышения активности аминотрансфераз, содержания общего и конъюгированного билирубина в плазме крови крыс. В то же время существенным представлялся факт достоверного уменьшения уровня оксида азота (табл. 1), обусловленного, возможно, противовоспалительным эффектом мелатонина, так и снижение уровня свободного билирубина (на 35 % по сравнению с группой «CCl<sub>4</sub>»,  $p < 0,05$ , данные не представлены). Гормон эпифиза не оказал влияния на активность ферментов печени и концентрацию билирубина и NO в плазме крови интактных крыс (табл. 1).

Еще в 1976 г. в обстоятельном обзоре Е. А. Smuckler отмечалось, что нарушение структуры и функций митохондрий при интоксикации тетрахлорметаном лежит в основе многих гепатоцитарных расстройств [32]. Автор показал, что значительные морфологические изменения после

воздействия наблюдаются в печени, почках, легких, но основные нарушения протекают в печени, так как в течение первых 90 мин после перорального введения весь  $\text{CCl}_4$  адсорбируется в кровотоки и проходит через печень [32]. Спустя 24 ч после поражения тетрахлорметаном нами наблюдалось выраженное уменьшение респираторной и синтетической активности митохондрий печени: скорости  $V_2$  и  $V_4$  не отличались от контрольных значений, тогда как скорость  $V_3$  снижалась на 50 % (субстрат – глутамат) и 60 % (субстрат – сукцинат) соответственно; коэффициенты АК и ДК при использовании обоих субстратов равнялись единице, а АДФ/О – нулю (табл. 2). По прошествии 24 ч после интоксикации активность сукцинатдегидрогеназы уменьшалась на 35 %, а активность митохондриальной глутатионпероксидазы возрастала на 90 % (см. табл. 1), содержание восстановленного GSH снижалось на 25 %, а смешанных дисульфидов глутатиона с белками GSSP увеличивалось на 30 %, что отражает развитие окислительного стресса в митохондриях и глутатионилирование митохондриальных белков.

**Таблица 1. Влияние мелатонина на показатели антиоксидантной защиты, активность ферментов цикла Кребса митохондрий печени крыс, активность ферментов – маркеров поражения печени, содержание билирубина и оксида азота в плазме крови крыс при острой интоксикации  $\text{CCl}_4$  (4 г/кг, 24 ч)**

Показатель	Контроль	$\text{CCl}_4$	$\text{CCl}_4$ + мелатонин	Мелатонин
Сукцинатдегидрогеназа, нмоль ДХФ/мин/мг белка	52,0 ± 8,5	33,4 ± 4,2**	30,8 ± 4,8**	49,8 ± 7,7
GSH, нмоль/мг белка	10,2 ± 1,3	7,6 ± 2,3*	5,9 ± 2,3**	10,9 ± 2,4
GSSP, нмоль/мг белка	0,18 ± 0,01	0,24 ± 0,02*	0,25 ± 0,03*	0,21 ± 0,05
Глутатионпероксидаза, нмоль GSH/мин/мг белка	592,0 ± 153,1	1116,1 ± 135,6**	892,2 ± 182,0	937,9 ± 147,9
АлТ, мккат/л	0,78 ± 0,09	1,84 ± 0,04***	1,80 ± 0,04***	0,84 ± 0,10
АсТ, мккат/л	0,74 ± 0,05	1,3 ± 0,08***	1,30 ± 0,05***	0,76 ± 0,04
Общий билирубин, мкмоль/л	1,95 ± 0,41	15,1 ± 1,9***	15,87 ± 3,43**	2,87 ± 0,39
NO, мкмоль/л	27,14 ± 1,49	42,0 ± 4,40**	27,50 ± 4,25#	32,14 ± 5,96

**Примечание.** Статистически достоверные отличия животных экспериментальных групп от контрольных (\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ) и особей, обработанных  $\text{CCl}_4$  и мелатонином, от особей, обработанных только  $\text{CCl}_4$  (# –  $p < 0,05$ ). То же для табл. 2.

Лечение животных мелатонином на фоне  $\text{CCl}_4$  не приводило к выраженной коррекции дисфункции митохондрий, параметры  $V_3$ , АК, ДК, АДФ/О достоверно не изменялись при утилизации глутамата в качестве субстрата дыхания (табл. 2), как и активность сукцинатдегидрогеназы (см. табл. 1), но наблюдалось частичное восстановление скорости фосфорилирующего дыхания  $V_3$  (на 30 %) при использовании сукцината в качестве субстрата дыхания при введении мелатонина (табл. 2). В то же время при использовании глутамата в качестве субстрата дыхания мелатонин стимулировал в митохондриях интактных крыс дыхание  $V_2$  и  $V_4$  на 60 и 50 % соответственно (табл. 2). Введение мелатонина при острой интоксикации не оказывало влияния на сниженный уровень GSH и повышенное содержание GSSP в митохондриях, но восстанавливало активность глутатионпероксидазы до контрольного уровня (табл. 1).

В нашем эксперименте при острой интоксикации крыс  $\text{CCl}_4$  развивался выраженный энергетический дефицит клеток печени вследствие снижения респираторной активности митохондрий, нарушения сопряжения процессов дыхания и окисления, что может быть обусловлено повреждением комплексов электронтранспортной цепи и системы антиоксидантной защиты и окислительным стрессом. Ранее также было показано, что  $\text{CCl}_4$  (4 г/кг) спустя 24 ч снижает скорость  $V_3$  дыхания митохондрий печени крыс на 93 % при использовании глутамата и на 65 % при использовании сукцината в качестве субстратов дыхания, существенно уменьшает скорость  $V_4$ , коэффициенты ДК и АДФ/О, активность NADH-дегидрогеназы (на 35 %), сукцинатдегидрогеназы (на 76 %), цитохром *c* оксидазы (на 51 %), уровень тканевого АТФ и одновременно увеличивает содержание АМФ [33]. Нами показано, что краткосрочное введение гормона эпифиза мелатонина животным частично предотвращало развитие токсического поражения печени: восстанавливало скорость фосфорилирующего дыхания  $V_3$ , активность глутатионпероксидазы митохондрий, препятствовало аккумуляции оксида азота.

Т а б л и ц а 2. Влияние мелатонина на показатели окислительного фосфорилирования в митохондриях печени крыс через 24 ч после острой интоксикации тетрахлорметаном

Группа животных	Скорость дыхания в присутствии субстрата ( $V_2$ )	Скорость дыхания, сопряженного с фосфорилированием (в присутствии ADP) ( $V_3$ )	Скорость дыхания после расходования ADP ( $V_4$ )	Коэффициент акцепторного контроля ( $V_3/V_2$ )	Коэффициент дыхательного контроля ( $V_3/V_4$ )	Коэффициент фосфорилирования (P/O)
Субстрат – сукцинат						
Контроль	47,8 ± 5,3	153,9 ± 11,2	49,9 ± 5,3	3,2 ± 0,4	3,13 ± 0,30	1,64 ± 0,1
CCl <sub>4</sub>	61,6 ± 4,6	54,2 ± 3,6**	58,4 ± 4,2	1,0 ± 0,1*	1,1 ± 0,1**	0,0
Мелатонин + CCl <sub>4</sub>	60,2 ± 4,8	71,9 ± 5,0**#	60,4 ± 4,6	1,1 ± 0,1*	1,18 ± 0,14*	0,0
Мелатонин	53,6 ± 6,7	141,4 ± 15,4	45,9 ± 4,8	2,6 ± 0,3	3,03 ± 0,40	1,48 ± 0,2
Субстрат – глутамат						
Контроль	18,7 ± 2,3	63,1 ± 4,7	20,6 ± 2,2	3,4 ± 0,3	3,11 ± 0,29	1,6 ± 0,1
CCl <sub>4</sub>	20,8 ± 4,6	27,5 ± 4,2**	27,5 ± 4,2	1,3 ± 0,5*	1,0 ± 0,02*	0,0
Мелатонин + CCl <sub>4</sub>	21,1 ± 3,5	29,5 ± 3,7**	26,5 ± 2,8	1,39 ± 0,53*	1,11 ± 0,09**	0,0
Мелатонин	33,0 ± 3,6*	73,4 ± 7,7	30,4 ± 3,3*	2,23 ± 0,22	2,41 ± 0,22	1,7 ± 0,2

П р и м е ч а н и е. Скорость потребления кислорода измеряли в нг-ат О/мин · мг белка.

В проведенных нами ранее экспериментах также установлено, что при острой интоксикации крыс тетрахлорметаном мелатонин значительно уменьшал жировую и гидропическую дистрофию печени, лейкоцитарную инфильтрацию, предотвращал некроз гепатоцитов, нормализовал изменения микроциркуляторного русла, демонстрируя гепатопротекторные и противовоспалительные свойства. Кроме того, при хронической интоксикации крыс CCl<sub>4</sub> длительное введение мелатонина предотвращало необратимые повреждения ультраструктуры митохондрий, ингибировало перекисное окисление липидов, стимулировало регенеративные процессы и уменьшало интенсивность воспалительной реакции в печени [9, 10, 19].

Являясь антиоксидантом прямого и непрямого действия и образуя активные метаболиты, мелатонин детоксицирует гидроксильный и пероксильный радикалы, гипохлорную кислоту, синглетный кислород, пероксинитрит, повышает уровень GSH и активность ферментов антиоксидантной защиты в тканях, в том числе при патологии, ингибирует индуцибельную синтазу оксида азота, способен регулировать ряд клеточных сигнальных каскадов [14, 21, 34–36].

Специфически накапливаясь в митохондриях, мелатонин воздействует на митохондриальный гомеостаз [37, 38]. Гепатопротекторные эффекты мелатонина можно объяснить высокой антиоксидантной активностью, связанной с электрон-донорными и радикал-скэвенджерными свойствами индоламина [14, 34–36], способностью регулировать митохондриальные процессы, иммунный ответ [10, 22, 36–38].

При моделировании окислительного повреждения митохондрий печени крыс *in vitro* в наших экспериментах мелатонин эффективно ингибировал перекисное окисление мембранных липидов и окисление митохондриального глутатиона, инактивацию ключевых митохондриальных ферментов, формирование пор высокой проницаемости в митохондриях [38].

Полученные нами результаты и многочисленные литературные сообщения позволяют заключить, что мелатонин, который метаболизируется главным образом в печени и характеризуется выраженной тропностью по отношению к митохондриям [10, 36–38], является весьма перспективным терапевтическим агентом. В то же время отсутствие выраженной коррекции митохондриальных нарушений при краткосрочном введении мелатонина в нашей модели острого токсического поражения заставляет предполагать иные, не связанные с регуляцией дыхательной активности митохондрий механизмы гепатопротекции. Очевидно, что неоднозначные и разнообразные эффекты мелатонина обусловлены: 1) сложным характером его действия, которое осуществляется на уровне прямого антиоксиданта и скэвенджера свободных радикалов (при высоких, фармакологических, концентрациях в тканях), регулятора экспрессии генов ряда ферментов, гормонального активатора клеточных и ядерных рецепторов (при малых концентрациях); 2) разной чувствительностью различных типов клеток и тканей к мелатонину; 3) каскадом образующихся метаболитов,

обладающих собственной биологической активностью. Терапевтические и протекторные свойства мелатонина зависят от дозы, длительности воздействия и, учитывая циркадный характер его биосинтеза, времени введения препарата.

**Заключение.** Острая интоксикация крыс четыреххлористым углеродом (4 г/кг) через 24 ч приводила к значительному падению скорости сукцинат- и глутаматзависимого потребления кислорода (на 65 и 50 % соответственно) митохондриями печени. Коэффициенты акцепторного и дыхательного контроля были равны 1, АДФ/О – нулю, что свидетельствует о нарушении респираторной и синтетической функции митохондрий и развитии энергетического дефицита. Митохондриальные изменения связаны с окислением GSH в органеллах, значительным ингибированием сукцинатдегидрогеназы и накоплением оксида азота в плазме крови. Краткосрочное введение мелатонина (10 мг/кг, троекратно) не защищало митохондрии печени крыс от нарушений функционального состояния при тяжелой интоксикации тетрахлорметаном, но частично восстанавливало скорость фосфорилирующего дыхания  $V_3$ , активность глутатионпероксидазы митохондрий, полностью предотвращало избыточное накопление оксида азота в плазме крови.

### Список использованной литературы

1. *Duchen, M. R.* Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology / M. R. Duchon // *Mol. Aspects of Med.* – 2004. – Vol. 25. – P. 365–451.
2. *Muller, F. L.* Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane / F. L. Muller, Y. Liu, H. Van Remmen // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, N 47. – P. 49064–49073.
3. Control of mitochondrial redox balance and cellular defense against oxidative damage by mitochondrial NADP<sup>+</sup>-dependent isocitrate dehydrogenase / S. H. Jo [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276, N 19. – P. 16168–16176.
4. Mechanisms of hepatotoxicity / H. Jaeschke [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2002. – Vol. 65, N 2. – P. 166–176.
5. *Martin, E. J.* Mitochondrial dysfunction is an early manifestation of 1,1-dichloroethylene-induced hepatotoxicity in mice / E. J. Martin, W. J. Racz, P. G. Forkert // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2003. – Vol. 304, N 1. – P. 121–129.
6. *Suomalainen, A.* Biomarkers for mitochondrial respiratory chain disorders / A. Suomalainen // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2011. – Vol. 34, N 2. – P. 277–282.
7. *Fosslien, E.* Mitochondrial medicine-molecular pathology of defective oxidative phosphorylation / E. Fosslien // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2001. – Vol. 31, N 1. – P. 25–67.
8. *Weber, L. W.* Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model / L. W. Weber, M. Boll, A. Stampfl // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2003. – Vol. 33. – P. 105–136.
9. Protective effects of melatonin against carbon tetrachloride hepatotoxicity in rats / L. B. Zavadnik [et al.] // *Cell Biochem. Funct.* – 2005. – Vol. 23. – P. 353–359.
10. Rat liver mitochondrial damage under acute or chronic carbon tetrachloride-induced intoxication: protection by melatonin and cranberry flavonoids / V. Cheshevnik [et al.] // *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 261. – P. 271–279.
11. (Z)-5-(4-methoxybenzylidene)thiazolidine-2,4-dione protects rats from carbon tetrachloride-induced liver injury and fibrogenesis / Z. Z. Chen [et al.] // *World J. Gastroenterol.* 2012. – Vol. 18. – P. 655–661.
12. *Basu, S.* Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients / S. Basu // *Toxicology.* – 2003. – Vol. 189. – P. 113–127.
13. *Jaeschke, H.* Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen-induced liver cell death / H. Jaeschke, M. L. Bajt // *Toxicol. Sci.* – 2006. – Vol. 89, N 1. – P. 31–41.
14. *Hardeland, R.* Kynuramines, metabolites of melatonin and other indoles: the resurrection of an almost forgotten class of biogenic amines / R. Hardeland, D. X. Tan, R. J. Reiter // *J. Pineal Res.* – 2009. – Vol. 47. – P. 109–126.
15. *Sun, H.* Melatonin: pharmacological aspects and clinical trends / H. Sun, F. F. Huang, S. Qu // *Lipids Health Dis.* – 2015. – Vol. 14. – P. 75.
16. Mitochondrial catastrophe during doxorubicin-induced cardiotoxicity: a review of the protective role of melatonin / J. Govender [et al.] // *J. Pineal Res.* – 2014. – Vol. 57. – P. 367–380.
17. Melatonin prevents oxidative damage induced by maternal ethanol administration and reduces homocysteine in the cerebellum of rat pups / F. Bagheri [et al.] // *Behav. Brain Res.* – 2015. – Vol. 287. – P. 215–225.
18. Constitutive and UV-induced metabolism of melatonin in keratinocytes and cell-free systems / T. W. Fischer [et al.] // *FASEB J.* – 2006. – Vol. 20. – P. E897–E907.
19. Corrections by melatonin of liver mitochondrial disorders under diabetes and acute intoxication in rats / V. Cheshevnik [et al.] // *Cell Biochem. Funct.* – 2011. – Vol. 29. – P. 481–488.
20. Melatonin: pharmacological aspects and clinical trends / E. R. Rios [et al.] // *Int. J. Neurosci.* – 2010. – Vol. 120. – P. 583–590.
21. Identification of highly elevated levels of melatonin in bone marrow: its origin and significance / D. X. Tan [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1999. – Vol. 1472. – P. 206–214.
22. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance / A. Carrillo-Vico [et al.] // *FASEB J.* – 2004. – Vol. 18. – P. 537–539.

23. Западнюк, И. П. // Лабораторные животные, их разведение, содержание и использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария. – Киев: Медизд., 1962. – С. 260–261.
24. Johnson, D. // Methods in Enzymology / D. Johnson, H. A. Lardy, R. Estabrook, M. E. Pullman (eds.). – N. Y., London: Acad. Press, 1967. – Vol. 10. – P. 94–96.
25. Oxygen-related processes in red blood cells exposed to *tert*-butyl hydroperoxide / I. K. Dremza [et al.] // Redox Rep. – 2006. – Vol. 11. – P. 185–192.
26. Martinez, J. I. A sensitive fluorimetric microassay for the determination of glutathione peroxidase activity. Application to human blood platelets / J. I. Martinez, J. M. Launay, C. Dreux // Anal. Biochem. – 1979. – Vol. 98. – P. 154–159.
27. Nulton-Persson, A. C. Modulation of mitochondrial function by hydrogen peroxide / A. C. Nulton-Persson, L. I. Szewda // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol. 276. – P. 23357–23361.
28. Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – Vol. 82. – P. 70–77.
29. Thiol groups in proteins as endogenous reductants to determine glutathione-protein mixed disulphides in biological systems / R. Rossi [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 1995. – Vol. 1243. – P. 230–238.
30. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids / L. C. Green [et al.] // Anal. Biochem. – 1982. – Vol. 126. – P. 131–138.
31. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.
32. Smuckler, E. A. Structural and functional changes in acute liver injury / E. A. Smuckler // Environ. Health Perspect. – 1976. – Vol. 15. – P. 13–25.
33. Padma, P. Protective effect of Phyllanthus fraternus against carbon tetrachloride-induced mitochondrial dysfunction / P. Padma, O. H. Setty // Life Sci. – 1999. – Vol. 64, N 25. – P. 2411–2417.
34. Melatonin directly scavenges free radicals generated in red blood cells and a cell-free system: Chemiluminescence measurements and theoretical calculations / I. B. Zavodnik [et al.] // Life Sci. – 2006. – Vol. 79. – Vol. 70. – P. 391–400.
35. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species / M. Allegra [et al.] // J. Pineal Res. – 2003. – Vol. 34. – P. 1–10.
36. Metabolism of melatonin by cytochrome P-450s in rat liver mitochondria and microsomes / I. Semak [et al.] // J. Pineal Res. – 2008. – Vol. 45. – P. 515–523.
37. Кузнецова, Е. И. Влияние мелатонина и его производных на активность дыхательных комплексов различных органов крыс *in vitro* / Е. И. Кузнецова, И. В. Семак // Новости мед.-биол. наук. – 2014. – № 1. – С. 38–42.
38. Oxidative damage of rat liver mitochondria during exposure to *t*-butyl hydroperoxide. Role of Ca<sup>2+</sup>-ions in oxidative processes / I. B. Zavodnik [et al.] // Life Sci. – 2013. – Vol. 92. – P. 1110–1117.