

УДК 577.151.643

ВЛИЯНИЕ SkQ1 НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ И НАДФН-ГЕНЕРИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ГИПЕРГЛИКЕМИИ

© 2015 Я.Г. Воронкова^{1*}, Т.Н. Попова¹, А.А. Агарков¹,
Р.А. Зиновкин²

¹ Воронежский государственный университет, 394006 Воронеж;
факс: +7(473)220-8755, электронная почта: janavoronkova@yandex.ru

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119991 Москва

Поступила в редакцию 21.07.15
После доработки 28.08.15

Исследовано воздействие митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 на активность глутатионовой антиоксидантной системы и НАДФН-генерирующих ферментов в печени и сыворотке крови крыс с гипергликемией, индуцированной протаминсульфатом. Показано, что внутрибрюшинное введение SkQ1 предотвращает падение уровня восстановленного глутатиона и увеличение активностей ферментов глутатионовой системы – глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы. Активности НАДФН-генерирующих ферментов – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и НАДФ-изоцитратдегидрогеназы при действии SkQ1 также изменялись в сторону контрольных значений. Вероятно, что в данной модели гипергликемии снижение уровня активных форм кислорода в митохондриях приводит к уменьшению нагрузки на глутатионовую антиоксидантную систему и ферменты, генерирующие НАДФН. Таким образом, SkQ1 является перспективным лекарственным средством для лечения или предотвращения негативных последствий, возникающих при гипергликемии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипергликемия, SkQ1, глутатион, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза.

Исследования последних двух десятилетий, посвященные сахарному диабету (СД), свидетельствуют о резком увеличении распространения данной эндокринопатии [1]. Согласно Международной диабетической федерации, этим заболеванием в мире страдает почти 250 млн человек, а к 2030 г. эта цифра может превысить 366 млн [1]. Из числа больных СД 70% приходится на сахарный диабет 2 типа (СД2), который является пятой среди ведущих причин смерти в мире [2]. При декомпенсации СД2 возможно развитие тяжелых осложнений печени, таких как жировая инфильтрация печени и последующего кетоацидоза [3].

Известно, что хроническая гипергликемия, являющаяся основным и объективным призна-

ком наличия СД2, тесно связана с развитием оксидативного стресса [4, 5], сопровождающегося чрезмерной генерацией свободных радикалов (СР) [6]. Эти высокоактивные соединения обладают прямым повреждающим действием на сосуды, ткани и органы. В клетках СР способствуют активации транскрипционного фактора NF-κB, вызывают апоптоз, нарушение секреции инсулина, а также тромбогенную трансформацию сосудистой стенки [7].

Важная роль в защите организма от повреждающего действия СР принадлежит глутатионпероксидазной/глутатионредуктазной (ГП/ГР) антиоксидантной системе, предупреждающей неблагоприятные последствия оксидативного стресса. Антиоксидантные свойства восстановленного глутатиона (GSH) определяются непосредственным взаимодействием его со СР и гидропероксидами [8]. Следует также отметить, что образующийся в ходе глутатионредуктазной реакции GSH выполняет роль акцептора гидроксильного радикала, а также является ингибитором процессов пероксидного окисления липидов на стадии разветвления цепи. Глутатионпе-

Принятые сокращения: СД – сахарный диабет; СД2 – сахарный диабет 2 типа; СР – свободные радикалы; GSH – восстановленный глутатион; ГП – глутатионпероксидаза; ГР – глутатионредуктаза; ГТ – глутатионтрансфераза; Г6ФДГ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; НАДФ-ИДГ – НАДФ-изоцитратдегидрогеназа; SkQ1 – 10-(6'-пластохинол)децилтрифенилфосфониум.

* Адресат для корреспонденции.

роксидаза (ГП) является ключевым ферментом, осуществляющим утилизацию активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления [9]. Благодаря функционированию ГР обеспечивается повышение уровня GSH без усиления его синтеза [9]. За счет превращения восстановленной формы глутатиона в окисленную, система глутатиона принимает ведущее участие в поддержании в тканях тиол-дисульфидного равновесия, которое необходимо для осуществления таких процессов жизнедеятельности клеток, как работа мембранных структур, деятельность цитоскелета, клеточное деление, регуляция активности гормонов пептидной структуры [10].

Глутатионтрансфераза (ГТ) является важным компонентом антиоксидантной защиты, осуществляющим детоксикацию продуктов перекисного окисления липидов, генерируемых в эндоплазматическом ретикулуме при метаболизме ксенобиотиков [11].

Работу ГП/ГР системы лимитирует концентрация НАДФН, используемого для восстановления глутатиона под действием глутатионредуктазы (ГР). Одним из основных поставщиков восстановительного эквивалента для работы данной системы является пентозофосфатный путь, ключевым ферментом которого является глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФДГ), катализирующая превращение глюкозо-6-фосфата в глюконо-лактон-6-фосфат. Имеются данные, что альтернативным источником НАДФН может быть реакция, катализируемая НАДФ-изоцитратдегидрогеназой (НАДФ-ИДГ), в ходе которой происходит окислительное декарбокислирование изоцитрата до 2-оксоглутарата [6].

Хронические заболевания часто сопровождаются длительным оксидативным стрессом, что приводит к истощению антиоксидантной системы. Как следствие, повышается интерес к исследованию веществ, способных оказывать регулирующее воздействие на свободно-радикальный гомеостаз организма. Известно, что повышение уровня митохондриальных активных форм кислорода играет важную роль в патогенезе СД2 [12]. Имеются данные, что у больных СД2 митохондриальные функции нарушены, митохондрии повреждены и производят меньшее количество АТФ [13, 14]. В связи с этим предпринимаются попытки лечения СД2 и гипергликемии путем подавления генерации избыточного количества митохондриальных СР [15].

10-(6'-пластохинол)децилтрифенилфосфониум (SkQ1) представляет собой пластохинон, связанный углеводородным линкером с липофильным катионом [16]. Данное вещество является высокоэффективным, митохондриально-адресованным антиоксидантом [17]. *In vitro* SkQ1 в

нанолярных концентрациях предотвращает апоптоз [18], а *in vivo* является эффективным средством для предотвращения и лечения целого ряда заболеваний, ассоциированных с оксидативным стрессом и старением [19, 20]. На мышечной модели СД2, который вызван высокоуглеводной жирной диетой, SkQ1 эффективно предотвращал окислительный стресс, продукцию активных форм кислорода и уменьшение количества белков дыхательной цепи митохондрий [21].

Целью данной работы является оценка содержания восстановленного глутатиона, активности ферментов глутатионовой системы (ГР, ГП, ГТ), а также ферментов-поставщиков НАДФН (Г6РДГ и НАДФ-ИДГ) в печени и сыворотке крови крыс при гипергликемии, вызванной введением протаминасульфата на фоне действия SkQ1.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Индукция гипергликемии у животных. В качестве объекта исследования использовали самцов белых лабораторных крыс (*Rattus rattus* L.) массой 150–200 г. Все процедуры эксперимента соответствовали требованиям Международных правил гуманного отношения к животным.

Гипергликемию вызывали путем внутримышечного введения протаминасульфата в течение трех недель в дозе 10 мг/кг массы тела животного (в объеме 0,5 мл 0,9%-ного NaCl) три раза в сутки [22]. Через три недели после начала индукции гипергликемии наркотизированных животных умерщвляли и использовали для дальнейших исследований. В ходе эксперимента животные были разделены на три группы: 1-я группа ($n = 12$) – контрольные животные; 2-я группа ($n = 12$) – крысы с гипергликемией, вызванной введением протаминасульфата; 3-я группа ($n = 12$) – животные с гипергликемией, которым внутривентриально вводили SkQ1 в виде раствора в дозе 1250 нмоль/кг один раз в сутки, начиная со второй недели.

Биохимические тесты. Пробы крови брали из хвостовой вены на 15, 17 и 19-й день эксперимента. Содержание глюкозы в сыворотке крови крыс определяли глюкозооксидазным методом с помощью набора реактивов «Глюкоза-12-вита» («Витал-Диагностикс», Россия). Принцип метода состоит в том, что при окислении β -глюкозы кислородом воздуха под действием глюкооксидазы образуется эквивалентное количество перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет хромогенные субстраты с образованием окрашенного продукта. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации глюкозы в пробе.

Для получения тканевого гомогената навески ткани печени гомогенизировали в четырехкратном объеме охлажденного буфера для выделения (0,1 М Tris-HCl, pH 7,8; 1 мМ ЭДТА; 1%-ный β -меркаптоэтанол). Полученную в результате гомогенизации вытяжку фильтровали через слой капрона с квадратными ячейками (0,1 мм) и центрифугировали при 10 000 g 10 мин для отделения неразрушенных тканевых элементов. Супернатант использовали в дальнейших исследованиях.

Венозную кровь набирали в чистую стеклянную пробирку без антикоагулянта и помещали на 0,5 ч в термостат при температуре 37°, после расслаивания фаз собирали супернатант и центрифугировали его при 4000 g 10 мин. Полученную сыворотку использовали для дальнейшего исследования.

Определение концентрации GSH проводили спектрофотометрически при длине волны 412 нм с использованием реактива Элмана [23]. Сульфгидрильная группа восстановленного глутатиона вступает в реакцию с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой (реактив Элмана) в результате чего в эквимольных количествах образуется окрашенный в желтый цвет тионитрофенильный анион, имеющий максимум поглощения при 412 нм.

Измерение активности ГП проводили с помощью сопряженной ферментативной реакции в среде спектрофотометрирования следующего состава: 50 мМ калий-фосфатный буфер, pH 7,4; 1 мМ ЭДТА; 0,12 мМ НАДФН; 0,85 мМ GSH; 0,37 мМ H_2O_2 ; 1 ед/мл ГР. Контрольная проба не содержала GSH.

Определение активности ГР проводили в среде, содержащей 50 мМ калий-фосфатный буфер, pH 7,4; 1 мМ ЭДТА; 0,16 мМ НАДФН; 0,8 мМ окисленного глутатиона.

Измерение активности ГТ проводили в среде следующего состава: 0,1 М калий-фосфатный-буфер, pH 7,4; 1 мМ ЭДТА; 1 мМ 1-Cl-2,4-динитробензол; 5 мМ GSH.

Для измерения активности Г6ФДГ использовали буфер 50 мМ Tris-HCl, pH 7,8; содержащий 3 мМ глюкозо-6-фосфата; 0,25 мМ НАДФ; 1 мМ $MnCl_2$.

Среда для определения активности НАДФ-ИДГ имела следующий состав: 50 мМ Tris-HCl (pH 7,6–7,8); 1,5 мМ изоцитрат; 2 мМ $MnCl_2$; 0,25 мМ НАДФ; 0,1 мМ ЭДТА. Реакцию начинали добавлением ферментного препарата.

Активности ферментов ГП, ГР, ГТ, Г6ФДГ и НАДФ-ИДГ определяли спектрофотометрически на приборе Hitachi U-1900 («Hitachi High-Technologies», Япония) при длине волны 340 нм.

За единицу ферментативной активности (Е) принимали количество фермента, катализирующее образование 1 мкмоль продукта реакции или превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин при температуре 25°. Общий белок определяли биуретовым методом.

Анализ результатов. Опыты проводили как минимум в 12-кратной биологической и 2-кратной аналитической повторностях. Результаты опытов сравнивали с контролем. Данные обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента с вычислением среднего значения, стандартного отклонения, различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее было показано, что прием SkQ1 предотвращал повышение уровня глюкозы в крови, вызванное введением протамина сульфата [24]. В настоящей работе проанализированы биохимические изменения в печени и сыворотке крови, происходящие в данной модели.

При инъекции протамина сульфата содержание GSH в печени снижалось в 1,4 раза, в сыворотке – в 1,8 раза, относительно контрольных значений (рис. 1). Вероятно, это могло быть связано со значительным возрастанием расхода данного метаболита в условиях интенсификации свободно-радикального окисления при СД. Кроме того, причиной падения концентрации глутатиона могло быть снижение интенсивности функционирования пентозофосфатного пути при СД, вследствие чего уменьшается доступность НАДФН, необходимого для регенерации восстановленного глутатиона [25]. Пусковым фактором в развитии свободно-радикального окисления при СД и его сосудистых осложнениях является нарушение метаболизма глюкозы. Гипергликемия активирует множество сигнальных механизмов в клетке: усиление полиолового пути обмена глюкозы, что истощает цитозольный уровень НАДФН и впоследствии GSH, повышение аутоокисления глюкозы с образованием конечных продуктов гликирования (КГП), повреждающих белки, нарушающих их функции и активирующих КГП-рецепторы, использующие активные формы кислорода в качестве вторичных мессенджеров, приводящих к активации протеинкиназы С с последующим усилением гипергликемии, а также тканевой гипоксии [26].

Введение SkQ1 статистически достоверно предотвращало снижение содержания глутатиона в печени и сыворотке крови крыс, имеющее место при гипергликемии, вызванной введени-

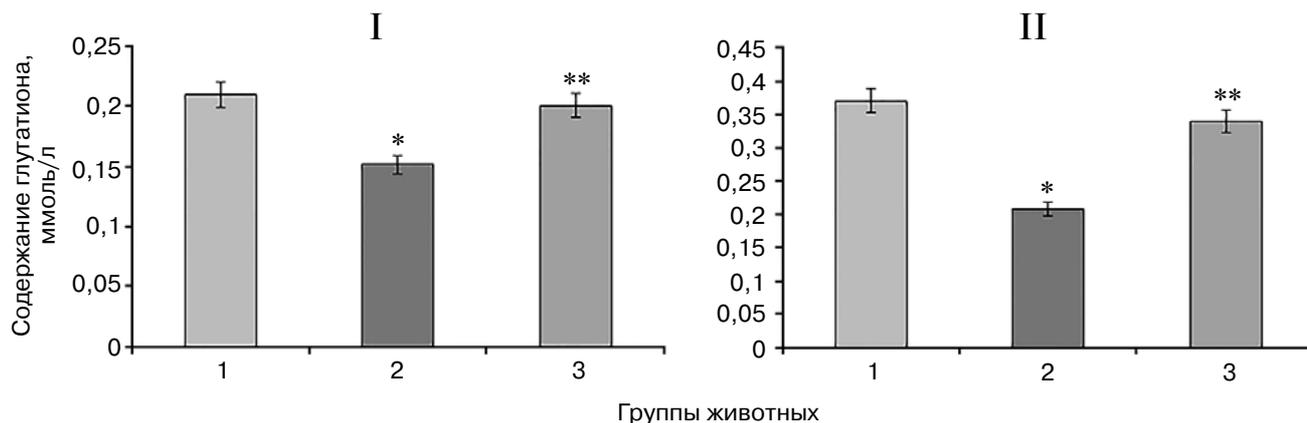


Рис. 1. Содержание глутатиона в печени (I) и сыворотке крови (II) крыс контрольной группы (1), животных с гипергликемией, вызванной введением протаминсульфата (2) и при введении SkQ1 животным с патологией (3). Указаны средние значения и стандартное отклонение. Различия при $p \leq 0,05$: (*) – по сравнению с контрольной группой; (**) – по сравнению с группой с экспериментальной гипергликемией

ем протаминсульфата (рис. 1). Это может быть объяснено снижением интенсивности процессов свободно-радикального окисления в организме животных, которым вводили данное ве-

щество. Известно, что митохондриально-направленные антиоксиданты класса SkQ способны «прерывать» цепные реакции образования СР, предотвращая снижение уровня восстанов-

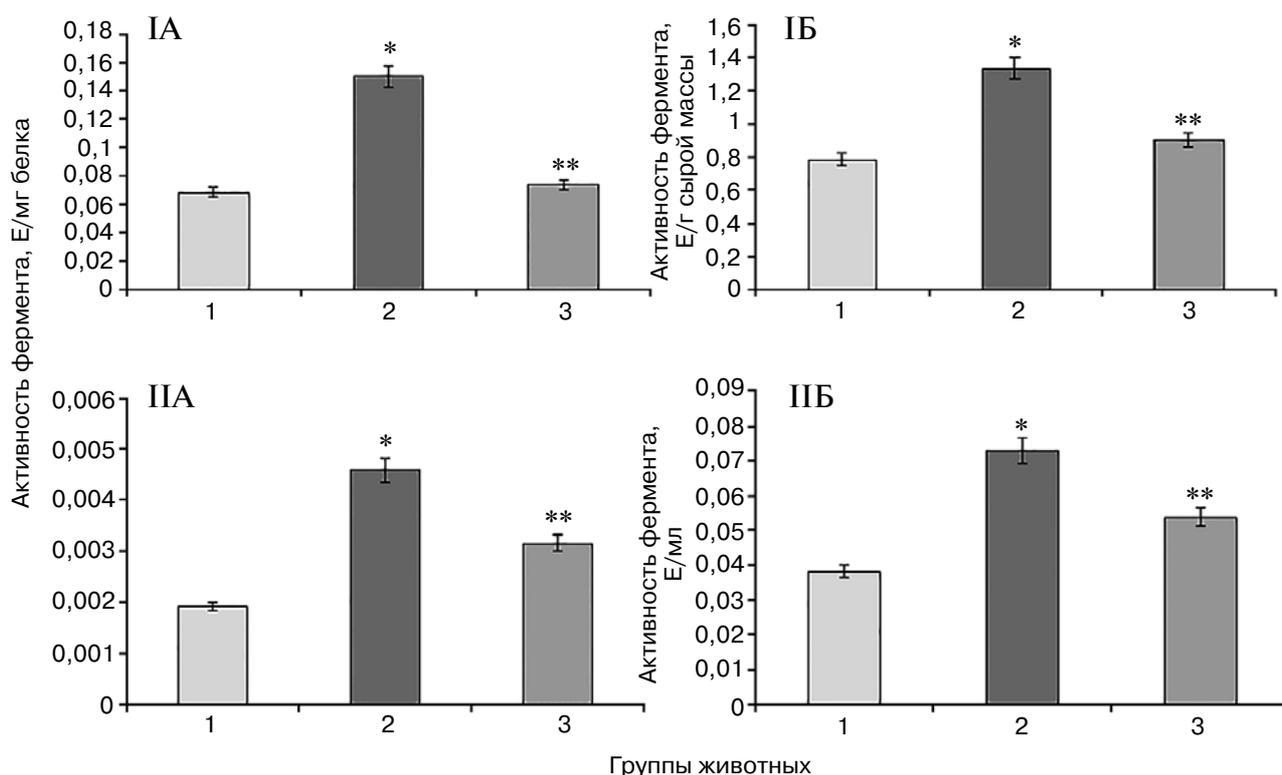


Рис. 2. Активность глутатионредуктазы у крыс контрольной группы (1), животных с гипергликемией, вызванной введением протаминсульфата (2) и при введении SkQ1 животным с патологией (3). I А – удельная активность фермента в печени; II А – удельная активность фермента в сыворотке крови; I Б – активность фермента, выраженная в виде Е на грамм сырой массы печени; II Б – активность фермента, выраженная в виде Е на мл сыворотки. Указаны средние значения и стандартное отклонение. Различия при $p \leq 0,05$; * – по сравнению с контрольной группой, ** – по сравнению с группой с экспериментальной гипергликемией

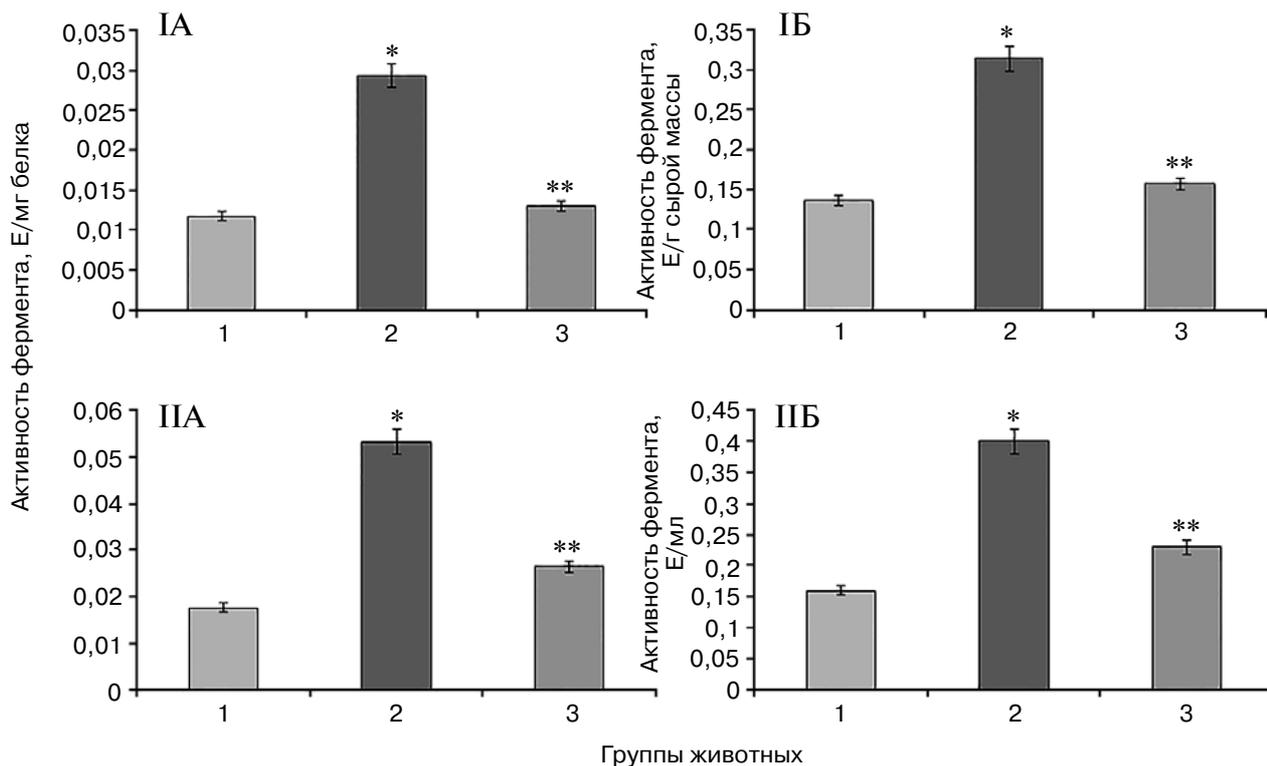


Рис. 3. Активность глутатионпероксидазы. Обозначения как на рис. 2

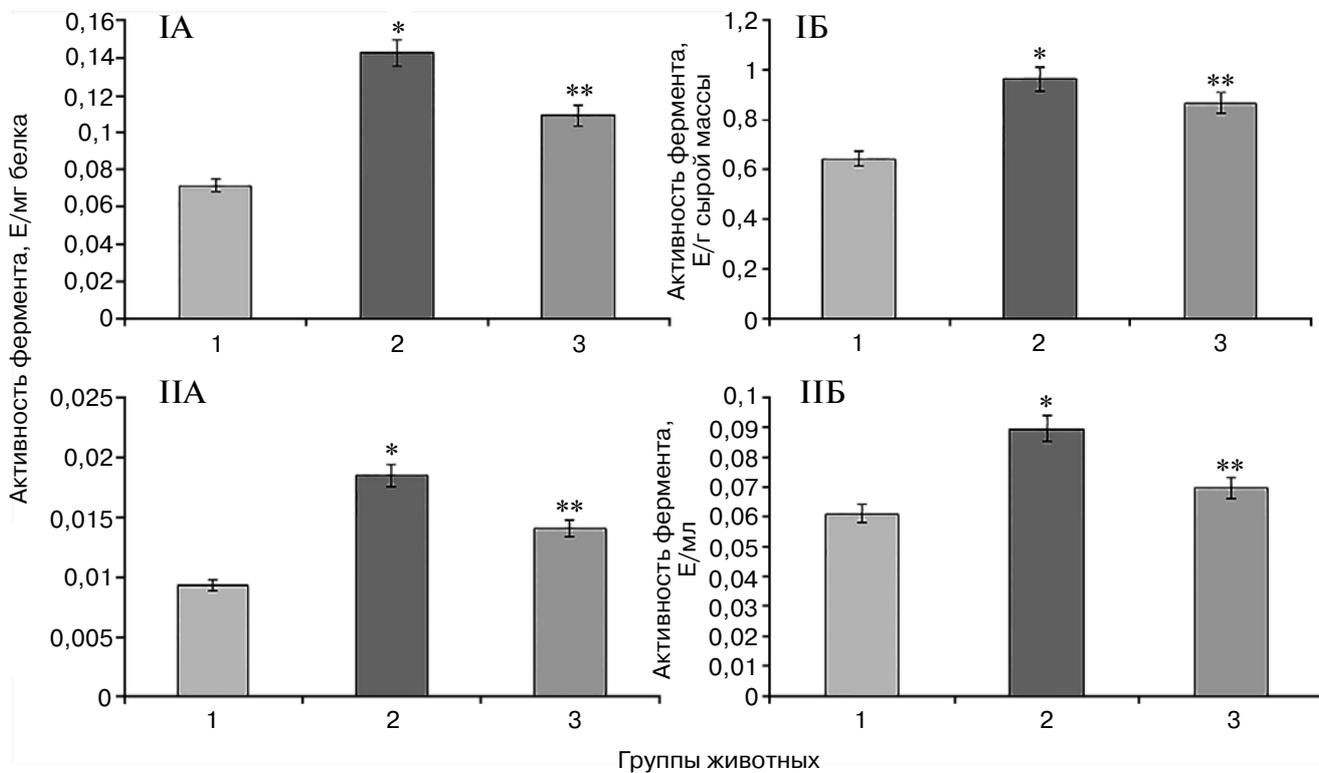


Рис. 4. Активность глутатионтрансферазы. Обозначения как на рис. 2

ленного глутатиона в клетках [17], тем самым защищая клетки от оксидативного стресса [27].

Гипергликемия, вызванная введением протаминсульфата, также приводила к значительной активации ферментативных реакций глутатионовой системы: ГР, ГП и ГТ (рис. 2, 3 и 4 соответственно). Вероятно, стимуляция глутатионовой системы происходила в ответ на избыточное образование активных форм кислорода при развитии гипергликемии. Причинами усиления свободнорадикальных процессов может являться, прежде всего, активация полиолового шунта, в котором глюкоза с участием альдозоредуктазы превращается в сорбитол. При этом потребляется большое количество НАДФН, необходимого для восстановления глутатиона. Сорбитол под действием сорбитолдегидрогеназы превращается во фруктозу, что сопровождается увеличением соотношения НАДФН/НАДФ. Данное состояние получило название «редуктивный стресс», или «гипергликемическая псевдогипоксия», поскольку аналогичные изменения возникают при развитии тканевой гипоксии [28].

Введение SkQ1 животным с экспериментальной гипергликемией, вызванной введением протаминсульфата сопровождалось достовер-

ным снижением активности ферментов глутатионовой системы (рис. 2–4). Логично предположить, что данные эффекты SkQ1 напрямую связаны с его антиоксидантными свойствами, что способствовало снижению нагрузки на исследуемые ферменты.

При гипергликемии, вызванной введением протаминсульфата, в печени и сыворотке крыс наблюдается возрастание активности НАДФ-ИДГ (рис. 5). Этот фермент является одним из поставщиков НАДФН для работы глутатионовой системы, что, очевидно, носит адаптивный характер, отражающий необходимость поставки восстановительных эквивалентов для данной системы в условиях оксидативного стресса. SkQ1 предотвращал повышение активности НАДФ-ИДГ (рис. 5). Вероятно, это могло быть связано со способностью используемого антиоксиданта снижать чрезмерную продукцию активных форм кислорода [16], что сопровождалось изменением активности исследуемого фермента в сторону контрольных значений.

Известно, что при экспериментальном диабете 2 типа активность Г6ФДГ значительно снижается во многих тканях, что может быть обусловлено несколькими причинами. Известно, что

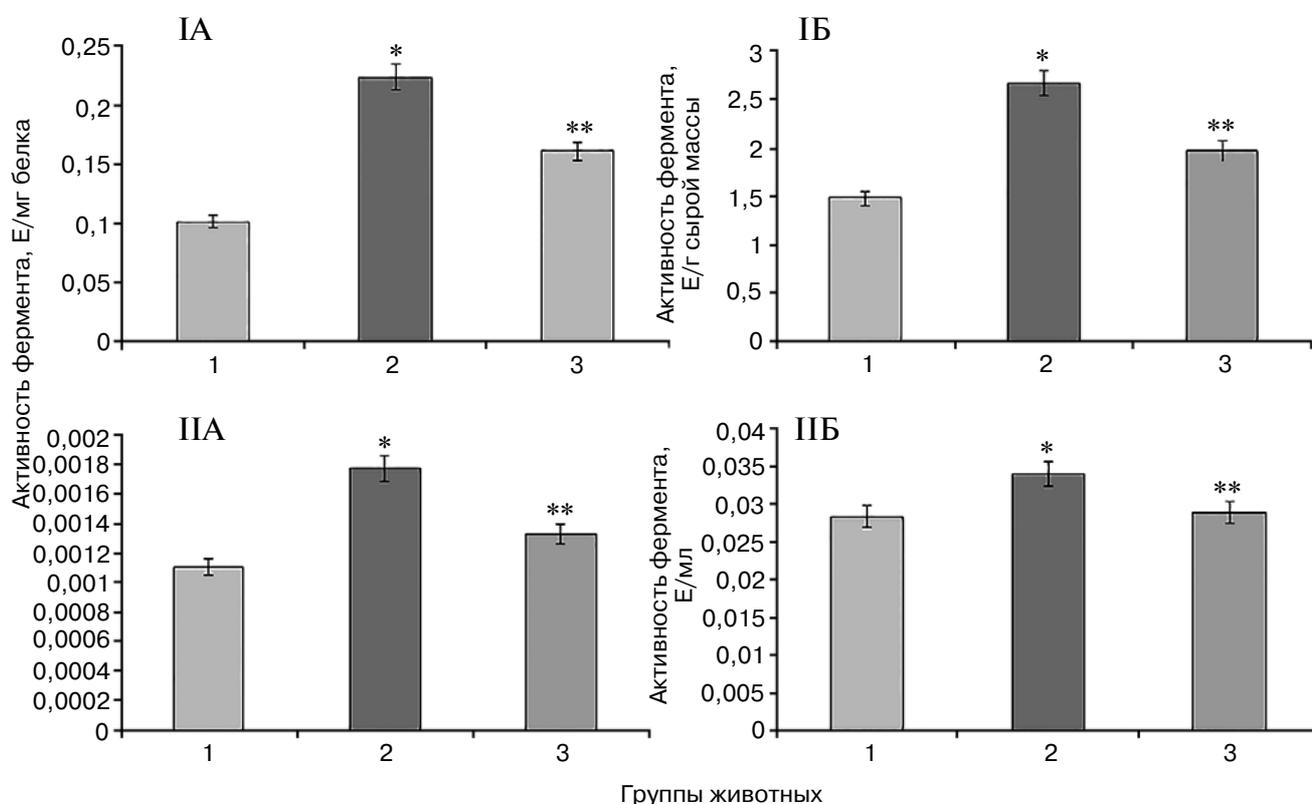


Рис. 5. Активность НАДФ-изоцитратдегидрогеназы. Обозначения как на рис. 2

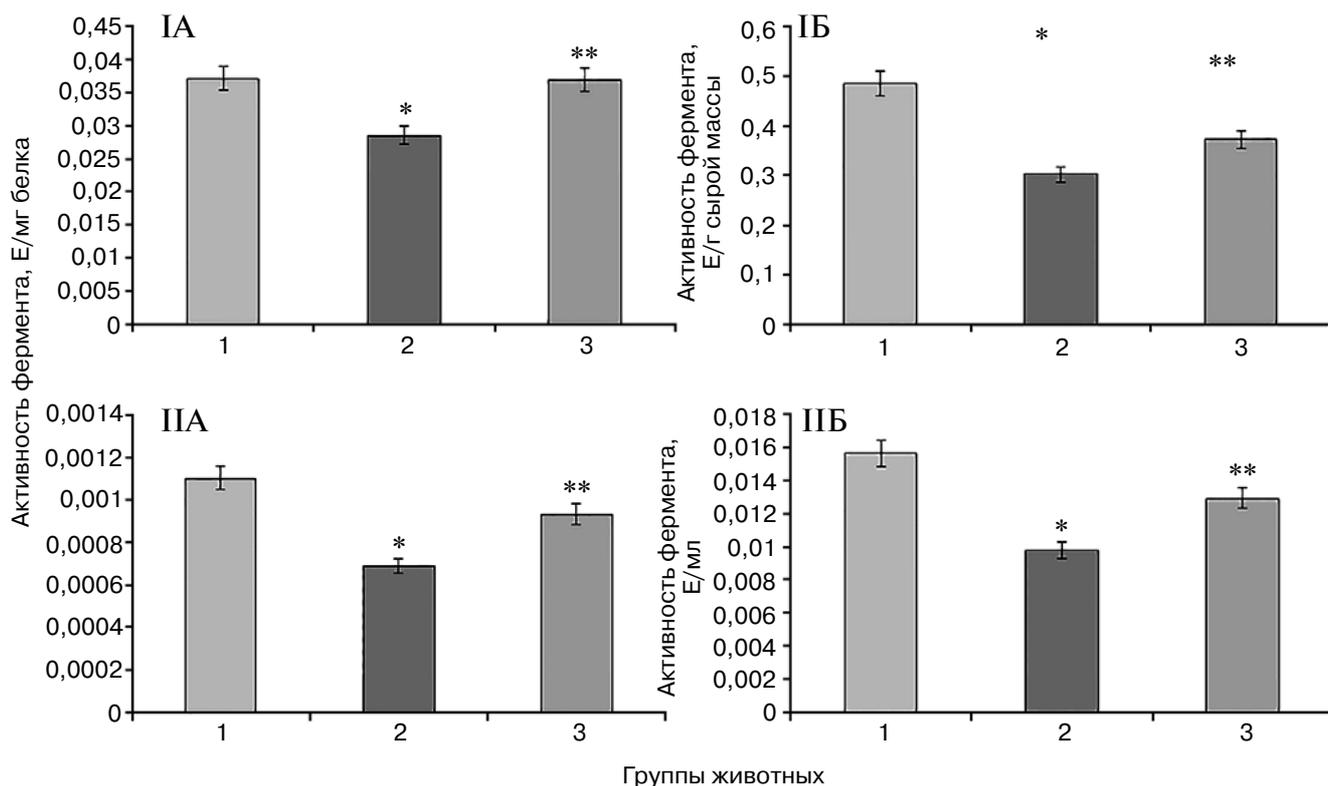


Рис. 6. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Обозначения как на рис. 2

в регуляции активности Г6ФДГ важную роль играет уровень глюкозы в крови [29]. При гипергликемии может происходить ингибирование активности фермента за счет возрастания активности аденилатциклазы, которое приводит к накоплению цАМФ и активации протеинкиназы А (ПКА), которая фосфорилирует и ингибирует Г6ФДГ. Другой механизм регуляции активности Г6ФДГ заключается в усилении процесса гликирования белков в условиях гипергликемии, при котором активность исследуемого фермента резко снижается [30]. Под действием протаминсульфата активность Г6ФДГ значительно снижалась относительно контроля (рис. 6). Введение животным с патологией SkQ1 также привело к изменению активности данного фермента в сторону контрольных значений (рис. 6).

По-видимому, SkQ1-опосредованная нормализация свободнорадикального гомеостаза организма при СД2 приводила к восстановлению интенсивности функционирования пентозофосфатного пути, что находило отражение в увеличении активности Г6ФДГ.

Согласно результатам проведенного исследования, при введении животным митохондриально-направленного антиоксиданта – SkQ1, на фоне гипергликемии, вызванной введением

протаминсульфата, происходит снижение активности ферментов глутатионовой системы, а также увеличение содержания GSH в тканях крыс по сравнению с данными показателями при патологии. По-видимому, в присутствии протектора, оказывающего антиоксидантное действие, вследствие торможения свободно-радикальных процессов, происходящих с участием митохондрий, снижается нагрузка на антиоксидантную систему, что приводит к меньшей степени активации ее глутатионного звена и снижению необходимости в поставке НАДФН для работы этой системы. Таким образом, представляется перспективным применение митохондриально-направленных антиоксидантов для предотвращения и устранения негативных последствий окислительного стресса, вызванного гипергликемией.

Авторы благодарят директора НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, академика РАН Скулачева Владимира Петровича за внимание к работе и ценные замечания при подготовке статьи.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант 14-24-00107).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Stumvoll, M., Goldstein, B.J., and van Haefen, T.W. (2005) Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy, *Lancet*, **365**, 1333–1346.
2. Roglic, G., Unwin, N., Bennett, P.H., Mathers, C., Tuomilehto, J., Nag, S., Connolly, V., and King, H. (2005) The burden of mortality attributable to diabetes realistic estimates for the year 2000, *Diabetes care*, **28**, 2130–2135.
3. Дедов И.И., Балаболкин М.И., Клебанова Е.М. (2004) Современные аспекты трансплантации островков поджелудочной железы при сахарном диабете, *Сахарный диабет*, **2**, 34–41.
4. Осипов А., Азизова О., Владимиров Ю. (1990) Активные формы кислорода и их роль в организме, *Успехи биол. хим.*, **31**, 180–208.
5. Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P., and Feldman, E.L. (2004) Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy, *Endocr. Rev.*, **25**, 612–628.
6. Попова Т.Н., Пашков А.Н., Семенихина А.В., Попов С.С., Рахманова Т.И. (2008) Свободнорадикальные процессы в биосистемах: Учебное пособие, *Кириллица, Старый Оскол*, 192.
7. Балаболкин М.И. (2002) Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете, *Сахарный диабет*, **4**, 4–16.
8. Lu, S.C. (1999) Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies, *FASEB J.*, **13**, 1169–1183.
9. Upton, J., Edens, F., and Ferket, P. (2009) The effects of dietary oxidized fat and selenium source on performance, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity in broiler chickens, *J. Appl. Poultry Res.*, **18**, 193–202.
10. Mannervik, B. (1980) Thioltransferases. Enzymatic basis of detoxication, *Biochem. Pharmacol. Toxicol., Academic Press, Orlando*, **2**, 229–244.
11. Habig, W.H., Pabst, M.J., and Jakoby, W.B. (1974) Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130–7139.
12. Schrauwen, P., and Hesselink, M.K. (2004) Oxidative capacity, lipotoxicity, and mitochondrial damage in type 2 diabetes, *Diabetes*, **53**, 1412–1417.
13. Kelley, D.E., He, J., Menshikova, E.V., and Ritov, V.B. (2002) Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes, *Diabetes*, **51**, 2944–2950.
14. Petersen, K.F., Dufour, S., Befroy, D., Garcia, R., and Shulman, G.I. (2004) Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes, *N. Engl. J. Med.*, **350**, 664–671.
15. Green, K., Brand, M.D., and Murphy, M.P. (2004) Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes, *Diabetes*, **53**, 110–118.
16. Antonenko, Y.N., Roginsky, V., Pashkovskaya, A., Rokitskaya, T., Kotova, E., Zasp, A., Chernyak, B., and Skulachev, V. (2008) Protective effects of mitochondria-targeted antioxidant SkQ in aqueous and lipid membrane environments, *J. Membr. Biol.*, **222**, 141–149.
17. Антоненко Ю., Аветисян А., Бакеева Л., Черняк Б., Чертков В., Домнина Л., Иванова О., Изюмов Д., Хайлова Л., Коршунова Г., Лямзаев К.Г., Мунтян М.С., Непряхина О.К., Пашковская А.А., Плетюшкина О.Ю., Пустовидко А.В., Рогинский В.А., Рокитская Т.И., Рууге Э.К., Сапрунова В.Б., Северина И.И., Симонян Р.А., Скулачев И.В., Скулачев М.В., Сумбатян Н.В., Свириева И.В., Ташлитский В.Н., Васильев Ю.М., Высоких М.Ю., Ягужинский Л.С., Замятнин А.А., Скулачев В.П. (2008) Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. Катионные производные пластохинона: синтез и исследование *in vitro*, *Биохимия*, **73**, 1589–1606.
18. Galkin, I.I., Pletjushkina, O.Y., Zinovkin, R.A., Zakharova, V.V., Birjukov, I.S., Chernyak, B.V., and Popova, E.N. (2014) Mitochondria-targeted antioxidants prevent TNF α -induced endothelial cell damage, *Biochemistry (Moscow)* **79**, 124–130.
19. Plotnikov, E.Y., Morosanova, M.A., Pevzner, I.B., Zorova, L.D., Manskikh, V.N., Pulkova, N.V., Galkina, S.I., Skulachev, V.P., and Zorov, D.B. (2013) Protective effect of mitochondria-targeted antioxidants in an acute bacterial infection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 3100–3108.
20. Skulachev, V.P. (2013) Cationic antioxidants as a powerful tool against mitochondrial oxidative stress, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **441**, 275–279.
21. Pagliarunga, S., Van Bree, B., Bosma, M., Valdecantos, M.P., Amengual-Cladera, E., Jorgensen, J.A., Van Beurden, D., Den Hartog, G.J., Ouwens, D.M., Briede, J.J., Schrauwen, P., and Hoeks, J. (2012) Targeting of mitochondrial reactive oxygen species production does not avert lipid-induced insulin resistance in muscle tissue from mice, *Diabetologia*, **55**, 2759–2768.
22. Ульянов А.М., Тарасов Ю.А. (2000) Инсулярная система животных при хроническом дефиците гепарина, *Вопр. мед. хим.*, **46**, 149–154.
23. Бузлама В.С. (1997) *Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты организма у животных*, ВНИИПФиТ, Воронеж, стр. 35.
24. Воронкова Я.Г., Попова Т.Н., Агарков А.А., Скулачев М.В. (2015) Воздействие 10-(6'-пластохинол)децилтрифенилфосфонииума (SkQ1) на оксидативный статус при гипергликемии у крыс, вызванной введением протаминсульфата, *Биохимия*, в печати.
25. McLennan, S.V., Heffernan, S., Wright, L., Rae, C., Fisher, E., Yue, D.K., and Turtle, J.R. (1991) Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes, *Diabetes*, **40**, 344–348.
26. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006) *Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты*, Слово, Москва.
27. Фетисова Е.К., Аветисян А.В., Изюмов Д.С., Коротецкая М.В., Ташлицкий В.Н., Скулачев В.П., Черняк Б.В. (2011) Р-гликопротеин, обуславливающий множественную лекарственную устойчивость, препятствует проявлению антиапоптотического действия митохондриально направленного антиоксиданта SkQR1, *Цитология*, **53**, 488–497.
28. Baynes, J.W., and Thorpe, S.R. (1999) Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm, *Diabetes*, **48**, 1–9.
29. Zhang, Z., Apse, K., Pang, J., and Stanton, R.C. (2000) High glucose inhibits glucose-6-phosphate dehydrogenase via cAMP in aortic endothelial cells, *J. Biol. Chem.*, **275**, 40042–40047.
30. Bulteau, A.-L., Verbeke, P., Petropoulos, I., Chaffotte, A.-F., and Friguet, B. (2001) Proteasome inhibition in glyoxal-treated fibroblasts and resistance of glycated glucose-6-phosphate dehydrogenase to 20 S proteasome degradation *in vitro*, *J. Biol. Chem.*, **276**, 45662–45668.

**EFFECT OF SkQ1 ON ACTIVITY OF THE GLUTATHIONE
SYSTEM AND NADPH-GENERATING ENZYMES
IN AN EXPERIMENTAL MODEL
OF HYPERGLYCEMIA**

**Ya. G. Voronkova^{1*}, T. N. Popova¹, A. A. Agarkov¹,
R. A. Zinovkin²**

¹ *Voronezh State University, Universitetskaya sq. 1, Voronezh 394006,
Russia; fax: +7(473)220-8755, E-mail: janavoronkova@yandex.ru*

² *A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology,
M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia*

Received July 21, 2015

Revision received August 28, 2015

We studied the effect of the mitochondrial-targeted antioxidant SkQ1 on antioxidant activity of the glutathione system and NADPH-generating enzymes in liver and in serum of rats with hyperglycemia induced by protamine sulfate. Intraperitoneal injection of SkQ1 prevented decrease in reduced glutathione and increase in activities of glutathione system enzymes – glutathione peroxidase, glutathione reductase, and glutathione transferase. The activity of NADPH-generating enzymes – glucose-6-phosphate dehydrogenase and NADP-isocitrate dehydrogenase – was also attenuated by SkQ1. In this model of hyperglycemia, decreased level of reactive oxygen species in mitochondria probably led to decreased burden on the glutathione antioxidant system and NADPH-generating enzymes. Thus, SkQ1 appears to be a promising substance for treatment and/or prevention of the adverse effects of hyperglycemia.

Key words: hyperglycemia, SkQ1, glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione transferase