

L. TERAS

HUMISOOLI JA RUTIINI KOOSTOIMEST OKSÜDATIIVSESSE FOSFORÜLEERUMISSE MAKSAKOE MITOKONDRIKES

Reuma ja reumatoidsete polüartriitide raviks kasutatakse laialdaselt muda ja mudast valmistatud preparaate. Meie vabariigis on häid tulemusi saadud Haapsalu ravimudast valmistatud humisooliga (Вейнпалу jt., 1960). Muda ning mudapreparaatide kõrval kasutatakse nimetatud haiguste puhul aga ka mitmesuguseid ravimeid, nende hulgas bioflavonoide (*resp.* P-vitamiini preparaate). Bioflavonoididel on nii eksperimentaalsetel kui ka kliinilistel andmetel märkimisväärne põletikuvastane toime, mis eriti ilmneb liigestes (Rinehart, 1945). Nii kasutasid J. Rinehart (1945, 1955), P. Warter jt. (1956), M. Schnir (1951) jt. reuma haigete raviks ainult bioflavonoide koos askorbiinhappega ja täheldasid kõikidel uuritud haigetel paranemist, mis väljendus palaviku langemises, subjektiivsete kaebuste kadumises või vähenemises ja erütrotsüütide settimise tunduvas languses. Ka L. Kook ja E. Müllerbeck (Кок, Мюллербек, 1965) leidsid, et reuma haigetel lastel paraneb üldseisund, kaovad valud liigestest ja normaliseerub temperatuur bioflavonoidide toimel kiiremini.

Humisooli ja bioflavonoidide samasuunaline raviefekt reuma ja reumatoidsete polüartriitide puhul on mõnevõrra üllatav, sest nende toime mitmesugustesse biokeemilistesse protsessidesse on tegelikult küllaltki vastassuunaline. Eriti on see väljendunud oksüdatsiooni ja oksüdatiivse fosforüleerumise korral, s. o. protsessides, mis mitmete autorite arvates on olulist tähtsust nii bioflavonoidide kui ka humisooli toimemehhanismis (Sibul, 1962, 1966; Teras, 1962). Kui bioflavonoidide (rutiini ja tee lehtedest eraldatud katehiinide) toimel suureneb vaba oksüdatsioon ning langeb oksüdatiivse fosforüleerumise tase (Teras, 1962), siis humisool stimuleerib just oksüdatsiooniga seotud fosforüleerumisprotsesse (Sibul, 1962; Сибуль, 1963). Ka adenosiintrifosfaasi (ATF-aasi) aktiivsusesse toimivad bioflavonoidid ja humisool erinevalt. Kui bioflavonoidide toimel ATF-aasi aktiivsus suureneb juba 7. katsepäevaks (Teras, 1966), siis humisool lühiajalisel manustamisel selle fermenti aktiivsusele kas ei mõju (Норман, 1966) või avaldab pärssivat toimet (Сибуль, 1960; Сибуль, Кильдема, 1965).

Arvestades ühelt poolt humisooli ning bioflavonoidide samasuunalist raviefekti reuma puhul ja teiselt poolt nende erinevat toimet mõnedesse biokeemilistesse protsessidesse kudedes, oligi käesoleva töö ülesandeks uurida humisooli ja rutiini koostoimet oksüdatiivsesse fosforüleerumisse ning ATF-aasi aktiivsusesse maksakoe mitokondrites.

Metoodika

Katsed tehti 200 g raskuste isaste valgete rottidega, kes jaotati viide rühma (igas ca 10 katseloomat) järgmiselt: I rühm — kontrollloomad; II ja III rühm — vastavall

10 ja 20 päeva vältel manustati katseloomadele iga päev subkutaanselt humisooli ühekordses inimese raviannuses, s. o. 3 ml/kg lahjenduses 1:100 (Норман, 1963); IV ja V rühm — vastavalt 10 ja 20 päeva vältel manustati katseloomadele iga päev peale humisooli subkutaanselt veel 25 mg/kg rutiini.

Pärast katseaja möödumist surmati loomad ja eraldati nende maksakoest mitokondrid juba varem kirjeldatud meetodil (Teras, 1962) diferentsiaaltsentrifuugimisega 9000 g juures. Mitokondrite oksüdatsiooni jälgiti Warburgi manomeetrilisel meetodil, kusjuures katse segu koosnes järgmistest komponentidest: 90 μmol fosfaatpuhvrit (pH 7,4), 4 μmol MgCl_2 , 3 μmol ATF, 60 μmol glükoosi, 50 μmol naatriumsuktsinaati, 50 ühikut (Kunitzi, McDonald (1946) järgi) A. Solsi jt. (1958) poolt väljatöötatud meetodil pärmist eraldatud heksokinaasi ja 0,5 ml mitokondrite suspensiooni, mis vastas 3–5 mg valgule. Valgu hulk mitokondrites määrati biureedireaktsiooni abil (Cornall jt., 1949). Katse segu inkubeeriti 30° C temperatuuris 30 minuti vältel atmosfäärse õhu juures. Inkubeerimisel kasutatud anorgaanilise fosfori väärtus määrati kolorimeetriliselt (Фердман, Сопин, 1957).

Katse vältel neeldunud hapniku ja fosfori hulk väljendati mikroaatomites.

Mitokondrite ATF-aasi aktiivsuse määramisel oli katse segul järgmine koostis: 50 μmol triispuhvrit (pH 7,1), 20 μmol MgCl_2 , 40 μmol KCl, 3 μmol ATF, 0,5 ml mitokondrite suspensiooni. Katse segu inkubeeriti 30° temperatuuris 20 minuti vältel ja vabanenud anorgaanilise fosfori hulk määrati samuti kolorimeetriliselt (Фердман, Сопин, 1957). ATF-aasi aktiivsus väljendati inkubeerimisel vabanenud anorgaanilise fosfori hulvana mikrogrammides mitokondrite 1 mg valgu kohta.

Katsetulemuste matemaatilisel analüüsil kasutati *t*-testi.

Uurimistulemused

Tulemused humisooli toime kohta oksüdatsioonisse ja fosforüleerumisse maksakoe mitokondrites on esitatud tabelis 1. Sealt nähtub, et humisool mõjustas nii oksüdatsiooni kui ka fosforüleerumist mõningal määral juba pärast 10 korral manustamist. Nii tõusis hapniku neeldumine

Tabel 1

Humisooli toime oksüdatiivsesse fosforüleerumisse maksakoe mitokondrites

Katserühm	Katseloomade arv	ΔO			ΔP			P:O		
		$x \pm m$	<i>P</i>	<i>P</i> _{diff}	$x \pm m$	<i>P</i>	<i>P</i> _{diff}	$x \pm m$	<i>P</i>	<i>P</i> _{diff}
Humisool (10 korda)	8	5,9±0,56	<0,01	<0,05	9,5±0,96	<0,01	>0,1 <0,2	1,64±0,20	<0,01	>0,5
Humisool (20 korda)	7	6,0±0,48	<0,01	<0,05	14,5±0,84	<0,01	<0,01	2,51±0,29	<0,01	<0,05
Kontroll	10	4,4±0,40	<0,01	—	7,2±1,15	<0,01	—	1,70±0,25	<0,01	—

4,4 mikroaatomilt 5,9 mikroaatomile, seega 34% (*P*_{diff} < 0,05). Samal ajal suurenes humisooli mõjul ka anorgaanilise fosfori kasutamine, moodustades 9,5 mikroaatomit (kontroll 7,2), mis aga katsetulemuste suurema hajuvuse tõttu polnud statistiliselt usaldusväärne. Et nii hapniku kui ka fosfori neeldumine suurenesid humisooli 10 süste mõjul ühepalju (32–34%), jäi P:O samaks mis kontrollrühmas. Ka 20-päevane humisooli süstimis-kuur suurendas maksakoe mitokondrites oksüdatsiooni (*P*_{diff} < 0,05), see-

juures aga hapniku neeldumine jäi samale tasemele, mille ta oli saavutanud juba 10. katsepäevaks (s.o. tõusis 36%, võrreldes kontrolliga). Fosforüleerumisprotsesside intensiivsus maksakoe mitokondrites suurenes aga pärast humisooli 20-päevast manustamist tunduvalt, võrreldes 10-kordse süstimisega. Nii moodustas anorgaanilise fosfori neeldumine selles katserühmas 14,5 mikroaatomit, mis on ca kaks korda suurem kontrollrühma näitajast ($P_{dif} < 0,01$). Vastavalt sellele suurenes humisooli 20 süste järel maksakoe mitokondrites tunduvalt ka P:O (2,51 kontrollrühma 1,70 vastu; $P_{dif} < 0,05$).

Seega tõendavad saadud uurimistulemused, et humisool stimuleerib maksakoe mitokondrites oksüdatiivset fosforüleerumist. Ühtlasi kinnitavad meie tulemused I. Sibula andmeid, kes aju homogenaatides täheldas humisooli toimel samuti oksüdatiivsete fosforüleerumisprotsesside intensiivistumist (Sibul, 1962, 1966).

Meie katsetes ilmnis humisooli toime maksakoe mitokondrite oksüdatiivsesse fosforüleerumisse eriti tugevasti pärast preparaadi 20-kordset süstimist. Seda, et humisooli maksimaalne toime ilmnis alles pärast tema pikaajalist manustamist, on nii eksperimentaalselt kui ka kliiniliselt täheldanud mitmed uurijad (Вейнпалу, 1963; Казе, 1960; Норман, 1963, 1966).

Tabel 2

Humisooli ja rutiini koostoime oksüdatiivsesse fosforüleerumisse maksakoe mitokondrites

Katserühm	Katseloomade arv	ΔO			ΔP			P:O		
		$x \pm m$	P	P_{dif}	$x \pm m$	P	P_{dif}	$x \pm m$	P	P_{dif}
Humisool+rutiin (10 korda)	10	$5,4 \pm 0,60$	$< 0,01$	$> 0,2$	$8,5 \pm 0,84$	$< 0,01$	$> 0,5$	$1,68 \pm 0,16$	$< 0,01$	—
Humisool+rutiin (20 korda)	10	$5,8 \pm 0,61$	$< 0,01$	$< 0,1$ $> 0,05$	$11,3 \pm 1,23$	$< 0,01$	$< 0,05$	$2,08 \pm 0,23$	$< 0,01$	$> 0,2$
Kontroll	10	$4,4 \pm 0,40$	$< 0,01$	—	$7,2 \pm 1,15$	$< 0,01$	—	$1,70 \pm 0,25$	$< 0,01$	—

Tabelist 2 selgub, et ka pärast rutiini ja humisooli üheaegset manustamist suurenes hapniku ja fosfori neeldumine 10. katsepäevaks mõnevõrra, kuid nende suhe, võrreldes kontrolliga, ei muutunud. Nii oli P:O väärtus humisooli koostoimel katseloomade maksa mitokondrites 1,68, kontrollrühmas 1,70.

Nagu ainuüksi humisooli puhul, nii ka rutiini ja humisooli pikemaajalisel (20 korda) üheaegsel süstimisel suurenes hapniku neeldumine maksakoe mitokondrites, kuid see polnud statistiliselt tõestatav. Antud juhul näitas oksüdatsioon 5,8 mikroaatomit O_2 , mis on keskmiselt 32% suurem kontrollrühmas täheldatud väärtusest ($P_{dif} < 0,1 > 0,05$). On huvitav märkida, et oksüdatsiooni tõus oli nii humisooli kui ka humisooli ja rutiini koostoimel peaaegu ühesugune: vastavalt 36 ja 32%.

Nagu humisool üksi nii ka humisool koos rutiiniga mõjustas pikaajalisel manustamisel veelgi rohkem oksüdatsiooniga seotud fosforüleerumisprotsesse maksakoe mitokondrites: fosfori kasutamine suurenes 57% ($P_{dif} < 0,05$), seega rohkem kui hapniku neeldumine. Vastavalt sellele kasvas mõnevõrra ka P:O väärtus.

Tabel 3

Humisooli toime eraldi ja koos rutiiniga ATF-aasi aktiivsusesse maksakoe mitokondrites

Katserühm	Katse- loomade arv	ATF-aasi aktiivsus (P µg/mg valgule)	P	P _{dif}
Kontroll	9	5,4±0,24	<0,01	—
Humisool (10 korda)	8	5,4±0,40	<0,01	—
Humisool (20 korda)	7	5,4±0,61	<0,01	—
Humisool+ rutiin (10 korda)	9	6,3±0,33	<0,01	>0,5
Humisool+ rutiin (20 korda)	10	5,2±0,54	<0,01	>0,5

Üheaegselt humisooli ning humisooli ja rutiini koostoime uurimisega oksüdatsioonile ning oksüdatiivsele fosforüleerumisele määrasime maksakoe mitokondrites ka ATF-aasi aktiivsuse. Vastavate katsete tulemused on esitatud tabelis 3. Seal selgub, et humisooli manustamine 10 ja 20 päeva vältel ei mõjustanud ATF-aasi aktiivsust katseloomadel maksakoe mitokondrites: see oli nii katse- kui ka kontrollrühmas 5,4 µg P/mg valgule. Ka humisooli ja rutiini koostoime ei põhjustanud muutusi ATF-aasi aktiivsuses.

Humisooli toimet ATF-aasi aktiivsusesse on uurinud veel I. Sibul ja L. Kildema (Сибуль, Кильдема, 1965) ning H. Norman (Норман, 1966). Esimesed jälgisid selle fermendi aktiivsust küülikute erütrotsüütides, H. Norman — valgete rottide lihaskoes. I. Sibul ja L. Kildema täheldasid pärast humisooli 8—10 injektsiooni erütrotsüütide ATF-aasi aktiivsuse langust, mis preparaadi edasisel süstimisel (kuni 20 injektsiooni) taastus. H. Norman andmeil ei põhjustanud humisool ATF-aasi aktiivsuse muutumist diafragmakoes ei 10, 20 ega 30 injektsiooni järel, kuid südamelihases esines pärast humisooli 30 injektsiooni ATF-aasi aktiivsuse tõus. Seega ei täheldanud H. Norman, nagu meiegi, humisooli toimet ATF-aasi aktiivsusesse 10 ja 20 süste korral.

Esitatud andmete põhjal näib tõenäolisena, et humisool toimib ATF-aasi aktiivsusesse erinevates kudedes erinevalt.

Kõrvutades käesolevate katsete tulemusi varem saadud andmetega (Teras, 1962) näeme, et humisooli ja rutiini üheaegsel manustamisel prevaleerib humisooli efekt. Kui rutiin kutsus maksakoe mitokondrites esile vaba oksüdatsiooni suurenemise, fosfori kasutamise languse ja P:O vähenemise, siis koos humisooliga süstituna tal sellist toimet ei ilmnud. Vastupidi, suurenesid nii fosforüleerumine kui ka P:O väärtus, kuigi vähemal määral kui humisooli manustamisel üksinda.

Humisooli ja rutiini üheaegsel süstimisel prevaleerivat humisooli efekti täheldasime ka ATF-aasi aktiivsuse uurimisel. Kui ATF-aasi aktiivsus maksakoe mitokondrites ainuüksi rutiini toimel tõusis (Teras, 1966), siis humisooli ja rutiini koossüstimisel ei saanud seda täheldada. Nii humisool üksinda kui ka koos rutiiniga ei mõjustanud ATF-aasi aktiivsust maksakoe mitokondrites.

Kokkuvõte

1. Humisooli pikaajalise manustamise järel suureneb valgete rottide maksakoe mitokondrites oksüdatiivne fosforüleerumine.

2. Humisool ei põhjusta ei lühi- ega pikaajalise injektsiooni järel ATF-aasi aktiivsuse muutumist maksakoe mitokondrites.

3. Rutiini ja humisooli üheaegsel manustamisel prevaleerib nii maksakoe mitokondrite oksüdatiivse fosforüleerumise kui ka ATF-aasi aktiivsuse puhul humisooli efekt.

KIRJANDUS

- Cornall A., Bardawill C., David M., 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* **177** (2) : 751—766.
- Kunitz M., McDonald M., 1946. Crystalline hexokinase. *J. Gen. Physiol.* **29** (6) : 393—412.
- Rinehart J., 1945. Observation on the treatment of rheumatic fever with vitamin P. *Ann. Rheumat. diseases* **5** : 11—13.
- Rinehart J., 1955. Rheumatic fever: Observation on the histogenesis, pathogenesis and use of ascorbic acid and bioflavonoids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **61** (3) : 684—698.
- Schnir M., 1951. Treatment of rheumatic fever with rutin and ascorbic acid. *J. Amer. Med. Assoc.* **146** : 972.
- Sibul I., 1962. Humisooli toime närvirakkude oksüdatiivse fosforüleerumise protsessidesse. Käsikiri NSVL MTA Eesti Eksperim. ja Kliinil. Med. Instituudis.
- Sibul I., 1966. Fosforüleerumise ja hingamise seose tugevnemisest humisooli toimel. *ENSV TA Toimet., Biol. Seeria* **15** : 418—422.
- Sols A., Fuente G., Villar-Palaci C., Asensio C., 1958. Substrate specificity and some other properties of bakers' yeast hexokinase. *Biochim. et biophys. acta* **30** : 92—101.
- Teras L., 1962. Bioflavonoidide toimest oksüdatsioonile ja oksüdeerivale fosforüleerumisele maksakoe mitokondrites. *ENSV TA Toimet., Biol. Seeria* **11** : 294—302.
- Teras L., 1966. Bioflavonoidide toimest adenosin trifosfataasi aktiivsusesse maksakoe mitokondrites. *ENSV TA Toimet., Biol. Seeria.* (Trükis.)
- Warter P., Drezner H., Donio D., Horoschak S., 1956. Seven-year observation on the treatment of arthritis with hesperidin-ascorbic acid. *J. Amer. Geriatr. Soc.* **4** (6) : 592—595.
- Вейнпалу Э. Ю., 1963. О действии препарата «Гумизоль» на соотношение фракций белков сыворотки крови. Тр. по курортологии **1** : 71—77. Таллин. (Изд. АН ЭССР).
- Вейнпалу Э. Ю., Сярите А. А., Верник Л. А., 1960. О лечении препаратом «Гумизоль» больных хроническим полиартритом. Тез. докл. совещания по материалам апробации лечебного препарата «Гумизоль», полученного из эстонской морской грязи : 7—8. Таллин.
- Казе К. И., 1960. О результатах лечения некоторых хронических заболеваний суставов препаратом «Гумизоль». Тез. докл. совещания по материалам апробации лечебного препарата «Гумизоль», полученного из эстонской морской грязи : 10—11. Таллин.
- Коок Л. Ю., Мюллербек Е. Х., 1965. О состоянии обмена витамина С и влияние на него биофлавоноидов у детей, больных ревматизмом. Материалы II биохим. конф. Прибалт. республик и Белорусской ССР : 361. Рига.
- Норман Х. К., 1963. О действии гумизоля на фосфорный и кальциевый обмен некоторых тканей в эксперименте. Тр. по курортологии **1** : 50—61. Таллин (Изд. АН ЭССР).
- Норман Х. К., 1966. Влияние гумизоля на активность легкорастворимой аденозинтрифосфатазы мышечных тканей. Изв. АН ЭССР, Сер. биол. **15** : 435—440.
- Сибуль И. К., 1960. О действии фракции гуминовых кислот эстонской лечебной грязи на активность некоторых ферментов животного организма. В сб.: Первая биохим. конф. Прибалт. республик и Белоруссии : 125—126. Тарту.
- Сибуль И. К., 1963. Экспериментальные данные к механизму лечебного действия гумизоля. Тр. по курортологии **1** : 38—49. Таллин. (Изд. АН ЭССР).
- Сибуль И. К., Кильдема Л. А., 1965. О действии гумизоля на активность аденозинтрифосфатазы и гексокиназы эритроцитов. Материалы II биохим. конф. Прибалт. республик и Белорусской ССР : 419—420. Рига.
- Фердман Д. Л., Сопин Е. Ф., 1957. Практикум по биологической химии : 117—118. М.

Л. ТЕРАС

О СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ ГУМИЗОЛЯ И РУТИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИЯХ ТКАНИ ПЕЧЕНИ

Резюме

При лечении ревматических и ревматоидных полиартритов широко применяются лечебные грязи и изготовленные из них препараты, в том числе полученный из Хаапсалульской морской грязи гумизоль. Помимо этого, при лечении названных заболеваний используются другие препараты, из которых заслуживают внимания биофлавоноиды (витамины Р).

Учитывая, что гумизоль и биофлавоноиды дают одинаковый лечебный эффект при ревматических полиартритах, но на различные биохимические процессы (окислительное фосфорилирование, активность аденозинтрифосфатазы) действуют противоположно, автор настоящей работы преследовала цель изучить совместное действие гумизоля и рутина на окислительное фосфорилирование и активность аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы) в митохондриях печени.

Опыты проводились на белых крысах-самцах весом около 200 г. Подопытные животные были разбиты на пять групп (по 7—10 крыс в каждой): I группа — контрольная; животным II и III групп вводили подкожно гумизоль в разведении 1:100 3 мл на 1 кг веса тела соответственно 10 и 20 раз; животные IV и V групп получали парентерально одновременно с гумизолем и рутин в дозе 25 мг на 1 кг веса в течение 10 или 20 дней.

Митохондрии печени выделяли дробным центрифугированием по ранее описанной методике (Teras, 1962). Для опыта брали по 0,5 мл суспензии митохондрий, что соответствует 3—5 мг белка. Количество белка определяли биуретовым методом (Cornall и др., 1949). Инкубационная смесь содержала следующие компоненты: 90 мкмоль фосфатного буфера (рН 7,4), 4 мкмоль $MgCl_2$, 3 мкмоль АТФ, 60 мкмоль глюкозы, 50 мкмоль янтарнокислого натрия и 50 единиц (Kunitz, McDonald, 1946) дрожжевой гексокиназы (Sols и др., 1958). Смесь инкубировали в аппарате Варбурга при 30°C в течение 30 минут. Убыль неорганического фосфора определяли колориметрическим методом (Фердман, Сопин, 1957).

При изучении АТФ-азной активности митохондрий опытная смесь состояла из 50 мкмоль трис-буфера (рН 7,1), 20 мкмоль $MgCl_2$, 40 мкмоль KCl , 3 мкмоль АТФ, 0,5 мл суспензии митохондрий. Смесь инкубировали при 30° в течение 20 минут. Нарастание неорганического фосфора также определяли колориметрическим методом (Фердман, Сопин, 1957).

Из опытов выяснилось, что уже кратковременное введение гумизоля (10 раз) действует на окисление и окислительное фосфорилирование в митохондриях. Так как поглощение O_2 и использование фосфора увеличивались одинаково (на 32—34%), соотношение Р:О по сравнению с контролем не изменилось. Длительное введение гумизоля (20 инъекций) еще больше влияло на окислительное фосфорилирование. Поглощение кислорода повышалось на 36% ($P_{diff} < 0,05$), т. е. оставалось на уровне, достигнутом уже на 10-й день опыта. Почти в два раза повысился уровень сопряженного с окислением фосфорилирования ($P_{diff} < 0,01$). Соответственно с этим при длительном введении гумизоля (20 инъекций) Р:О составляло 2,51 (в контрольной группе 1,70).

При совместном введении гумизоля и рутина в течение 10 дней отмечалось также некоторое повышение окисления и окислительного фосфорилирования, однако Р:О по сравнению с контролем не изменилось. При длительном введении (20 инъекций) гумизоля с рутином отмечалось повышение окисления в митохондриях печени, причем увеличение окисления было почти таким же, как при введении гумизоля (т. е. на 32%), однако статистически это оказалось мало достоверным. Одновременно еще больше повысился уровень фосфорилирования (на 57%), а соотношение Р:О было несколько выше, чем в контрольных опытах.

На активность АТФ-азы в митохондриях печени гумизоль не влиял: как при кратковременном (10 инъекций), так и при длительном (20 инъекций) введении гумизоля активность АТФ-азы была почти такой же, как в контрольной группе. Активность АТФ-азы в митохондриях не изменялась также при введении гумизоля с рутином.

Из полученных данных видно, что гумизоль стимулирует процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях печени, что особенно четко выражено при дли-

тельном введении препарата. При одновременном введении гумизола и рутина преобладает эффект гумизола как в отношении окислительного фосфорилирования, так и активности АТФ-азы.

*Эстонский институт экспериментальной
и клинической медицины
Академии медицинских наук СССР*

Поступила в редакцию
15/XII 1965

L. TERAS

THE JOINT ACTION OF HUMISOL AND RUTIN UPON THE OXIDATIVE PHOSPHORYLATION IN LIVER MITOCHONDRIA

Summary

Taking into consideration that Humisol and bioflavonoids have the same clinical effect upon the rheumatic and rheumatoid arthritis, but a different effect upon various biochemical processes (oxidative phosphorylation, adenosine triphosphatase (ATP-ase) activity, etc.) the joint action of Humisol and rutin upon the oxidative phosphorylation and ATP-ase activity in liver mitochondria was studied.

The experiments were carried out on male albino rats, (weighing ca 200 g), which were divided into 5 groups (7—10 rats in each group): I — the control-group; to the rats of group II and III Humisol was administered subcutaneously in a dosis of 3 ml of dilution 1:100 per 1 kg of weight, 10 and 20 times respectively; to the animals of groups IV and V rutin was administered in a dosis of 25 mg per 1 kg of weight, next to Humisol, during 10 and 20 days.

The rats were killed and the liver mitochondria were isolated by centrifugation at 9000 *g* (Teras, 1962). The oxidative phosphorylation and ATP-ase activity were determined by the methods described previously (Teras, 1962, 1966).

The results of experiments showed that the administration of Humisol during a short period (10 times) already influenced the rate of oxidative phosphorylation in liver mitochondria. As the uptake of oxygen and inorganic phosphate in liver mitochondria increased equally by 32—34 per cent, the ratio P:O did not change.

The administration of Humisol during a long period (20 times) influenced the oxidative phosphorylation to an even greater extent. Thus, the absorption of O₂ increased by 36 per cent ($P_{adj} < 0.05$). Significantly more, nearly twice, the rate of phosphorylation coupled to oxydation was increased. In accordance with this the ratio P:O was notably greater (2.51) in the experimental group than in the control one (1.70).

By a joint administration of Humisol and rutin during a period of 10 days, an increase of oxidation and phosphorylation could also be observed; however, the P:O ratio did not differ from that of the control group.

At the administration of Humisol + rutin during a long period (20 injections), the rate of oxidation increased almost as much as at the administration of Humisol alone (by 32 per cent). At the same time, the rate of phosphorylation increased by 57 per cent. Accordingly the ratio P:O was a little greater in the experimental group than in the control one.

The administration of Humisol and Humisol + rutin appears to have no influence on the ATP-ase activity in liver mitochondria.

Thus, the results of experiments revealed that Humisol stimulates the oxidative phosphorylation in liver mitochondria, which was particularly noticeable at the administration of the preparation over a long period. At a simultaneous administration of Humisol and rutin, the effect of Humisol predominates both in the oxidative phosphorylation and in the ATP-ase activity.

*Academy of Medical Sciences of the USSR,
Estonian Institute of Experimental and Clinical Medicine*

Received
Dec. 15, 1965