ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА У САМОК И САМПОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

<u>Леонтьев Д.С.</u>, Быкова И.Ю., Кондрашова М.Н.*, АнищенкоТ.Г.

Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, г. Саратов.

* Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино

Преодоление неблагоприятных факторов сопряжено мобилизацией энергетических ресурсов в организме, что делает митохондрии активным участником стрессорной реакции. Существуют данные, что изменения митохондриального метаболизма в условиях стресса затрагивают в первую очередь активность ферментов цикла Кребса и АТФ-азы. Однако детали этих изменений на данный момент остаются еще не совсем изученными. Кроме этого, большую роль в устойчивости к стрессу играет и фактор пола. Экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о том, что женские особи дольше живут и являются более резистентными ПО отношению К стрессовым воздействиям. В СВЯЗИ вышеизложенным целью нашей работы было исследование особенностей изменений митохондриального метаболизма у самок и самцов под воздействием стресса.

Для экспериментов были использованы самки и самцы беспородных крыс массой 220-250 г. Стресс моделировался путем жесткой иммобилизации животного на спине в течение 30 мин. Изучали интенсивность дыхания митохондрий, активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ), цитратсинтазы и АТФ-азы в контроле и после острого стресса. Дыхание митохондрий измеряли в гомогенате печени с помощью кислородного электрода Кларка и полярографической ячейки. Для оценки фосфорилирующего дыхания использовалась добавка АДФ (200 мкМ). Разобщенное дыхание изучали при добавлении 10-6 М С1-ССР. Для изучения вклада эндогенного сукцината в общее дыхание применяли добавку 2 мМ малоната (МАЛ) – ингибитора СДГ.

Активность СДГ определяли по степени восстановленности феррицианида $K_3[Fe(CN)_6]$. Активность цитратсинтазы оценивали по скорости образования цитрата в инкубируемой пробе. Активность АТФ-азы измеряли по скорости образования неорганического фосфата из АТФ.

Результаты показали, что у самок в покое скорость как фосфорилирующего, так и разобщенного дыхания, при окислении сукцината, на 28% выше, чем у самцов (р < 0,05). В экспериментах, проведенных в весенний сезон (март, апрель), различия в скорости разобщенного дыхания проявлялись в еще большей степени. Процент активации дыхания на добавку разобщителя (C1-CCP) составлял для самок 85%, а для самцов 37% (р < 0,05).

Острый стресс привел к усилению окисления сукцината митохондриями самцов на 62% (р < 0,05). В отличие от самцов у самок такого заметного усиления не произошло. У самцов, увеличилась и интенсивность разобщенного Cl-CCP окисления сукцината на 56% (р < 0,05).

Как и на сукцинате, дыхание на **КГЛ** в покое у самцов ниже, чем у самок, а после стресса наблюдается активация, чего не происходит у самок. Особенно выражены различия по малонатчувствительной фракции дыхания (**МЧФ**). В покое она несколько ниже у самцов, чем у самок, и увеличивается у них вдвое после стресса, в то время, как у самок увеличения не наблюдается.

Измерение активности СДГ демонстрирует картину, сходную с данными по дыханию. После воздействия острого стресса активация СДГ у самцов была почти вдвое выше, чем у самок – 56% и 30%, соответственно (р < 0,05). Изменение активности цитратсинтазы у самцов и самок в ответ на стресс противоположно изменению активности СДГ и окисления сукцината – активация у самцов почти вдвое ниже, чем у самок. Эти различия можно объяснить тем, что протекание полного цикла Кребса характерно для состояния покоя, а обход его начальных этапов, приводящий к ускоренному образованию сукцината, характерен для возбуждения. Как показано, возбуждение мощнее реализуется у самцов.

Изучение активности митохондриальной АТФ-азы выявило существенные различия по этому показателю у самок и самцов в исходном состоянии. Так, у самок активность фермента была на 27% выше, чем у самцов (р < 0,05). Острый стресс привел к повышению активности АТФ-азы у самок на 96% (р < 0,05) а у самцов на 100% (р < 0,05).

Таким образом, обнаружено, что реакция на острый стресс осуществляется усилением окисления сукцината, как добавленного, так и образующегося из КГЛ, – малонатчувствительная фракция. Эта реакция сильнее выражена у самцов, что подтверждается и прямым измерением активности СДГ. Увеличение активности АТФ-азы в условиях стресса также является механизмом повышения сопротивляемости организма за счет ускорения синтеза АТФ.

Выполнено при поддержке грантом CRDF (SR-006-X1).