

## АТФазная АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ МОЗГА И ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ГИПОКИНЕЗИИ

О.П.Соцкий, В.П.Акопян, К.Р.Маилян, Л.В.Едигарова,  
Д.С.Шафразян, А.А.Василян

*/Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци,  
кафедра фармакологии/  
375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

**Ключевые слова:** гипокинезия, АТФаза, митохондрии

Ограничение двигательной активности снижает адаптационные возможности организма и искажает ответы на многочисленные экстремальные факторы окружающей среды [10]. В связи с этим особый интерес представляют исследования, направленные на изучение ферментных систем, связанных с энергетическим обменом, так как способность организма адаптироваться к внешней среде, его жизнедеятельность во многом зависят от скорости образования макроэргов в митохондриях [6, 7].

Целью данного исследования явилось изучение характера сдвигов в активности  $Mg^{2+}$  и 2,4-ДНФ-АТФаз митохондрий мозга и печени белых крыс в условиях гипокинезии (ГК).

### Материал и методы

Эксперименты проводились на белых крысах-самцах массой 150-180 г, содержавшихся на обычном пищевом рационе. ГК достигалась помещением крыс в тесные индивидуальные клетки-пеналы из органического стекла, снабженные специальными поилками. Животные забивались на 15-, 30- и 45-е сутки ГК и были разделены на 2 группы – интактные крысы – контроль и животные в условиях ГК конкретного срока. Митохондрии мозга и печени выделяли по общепринятым методикам [6]. АТФазную активность митохондрий измеряли по количеству неорганического фосфора, освобожденного в течение 30 мин инкубации при 37°C в среде, содержащей: трис-буфер (рН 7,4) – 5 мМ, КСl – 100 мМ, АТФ- $Na_2$  – 3 мМ,  $MgCl_2$  – 30 мМ или 2,4-ДНФ – 0,1 мМ [5] и митохондриальный белок (100-150 мкг). Общий объем инкубационной смеси составлял 1 мл. Неорганический фосфор определяли по методу Якушевой и Орловой [12], белок – по методу Lowry [13]. Полученные данные подвергнуты статистической обработке с применением компьютерных программ.

## Результаты и обсуждение

Исследованиями установлено (таблица), что ограничение двигательной активности приводит к заметным изменениям активности мембраносвязанных ферментов в митохондриях мозга и печени. Направленность сдвигов в активности АТФаз показывает, что она однотипна для  $Mg^{2+}$ -АТФаз митохондрий обоих органов (рис.1, 2). Подобной закономерности не наблюдается в отклонении 2,4-ДНФ-АТФаз митохондрий мозга и печени.

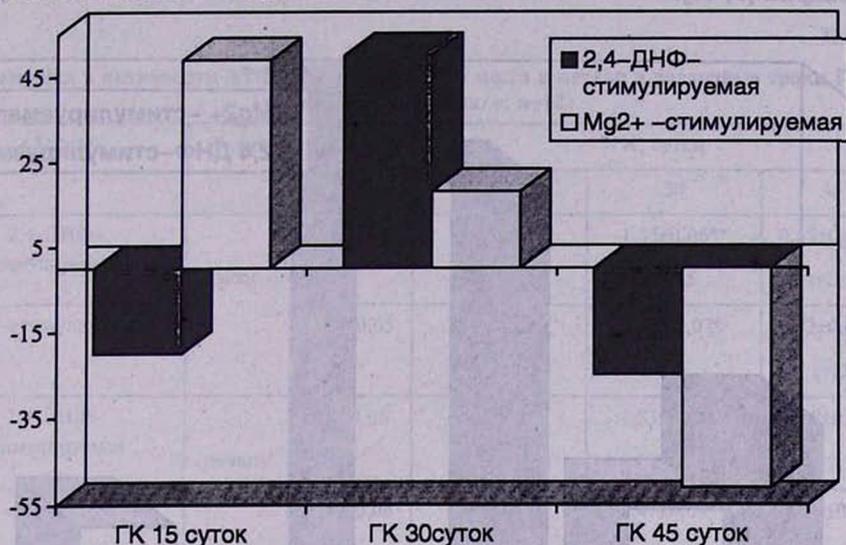


Рис. 1. Динамика сдвигов в активности АТФаз митохондрий мозга в различные сроки ГК. По оси ординат — изменение активности фермента в % к контролю, по оси абсцисс — время действия гипокинезии.

Так, на 15- и 30-е сутки ГК активность  $Mg^{2+}$ -АТФазы митохондрий мозга возрастает на 49 и 18%, в печени — на 72 и 17%, а на 45-е сутки — падает на 51 и 12% соответственно по сравнению с группой интактных животных (рис.1, 2). Различная степень повышения активности  $Mg^{2+}$ -АТФазы митохондрий мозга и печени на 15- и 30-е сутки гипокинезии и ее понижение на 45-е сутки, возможно, объясняется, с одной стороны, особенностями дыхательной цепи митохондрий обоих органов, а с другой — неодинаковым использованием ими свободных жирных кислот в качестве энергетических субстратов.

Как было показано исследованиями, преимущественное использование организмом в качестве энергетических субстратов свободных жирных кислот приводит к лабильности структуры митохондрий, разобщению окислительного фосфорилирования и увеличению потребления кислорода, а следовательно, к изменению активности АТФаз [9]. В однонаправленности сдвигов в активности  $Mg^{2+}$ -АТФазы митохондрий обоих органов, по нашему мнению, проявляется универсальность ответа мембранных структур клетки на ограничение двигательной активности. Как неоднократно отмечали многие исследователи [3,7], длительные стрессорные воздействия, и в частности ГК, приводят к активации фосфолипаз, липаз, ПОЛ и детергентного действия избытка лизофосфатидов и

жирных кислот. Это, в свою очередь, способствует изменениям в липидном окружении липидзависимых мембраносвязанных ферментов, в частности  $Mg^{2+}$ -АТФазы, и, как следствие, к сдвигам в ее активности. Повышение активности  $Mg^{2+}$ -АТФазы на 15- и 30-е сутки ГК в мозге и печени мы в определенной степени связываем с возможным накоплением в митохондриальных мембранах фосфатидилэтаноламина, который, согласно данным некоторых исследователей, является модулятором ряда мембранных ферментов, в частности  $Mg^{2+}$ -АТФазы митохондрий [3, 11].

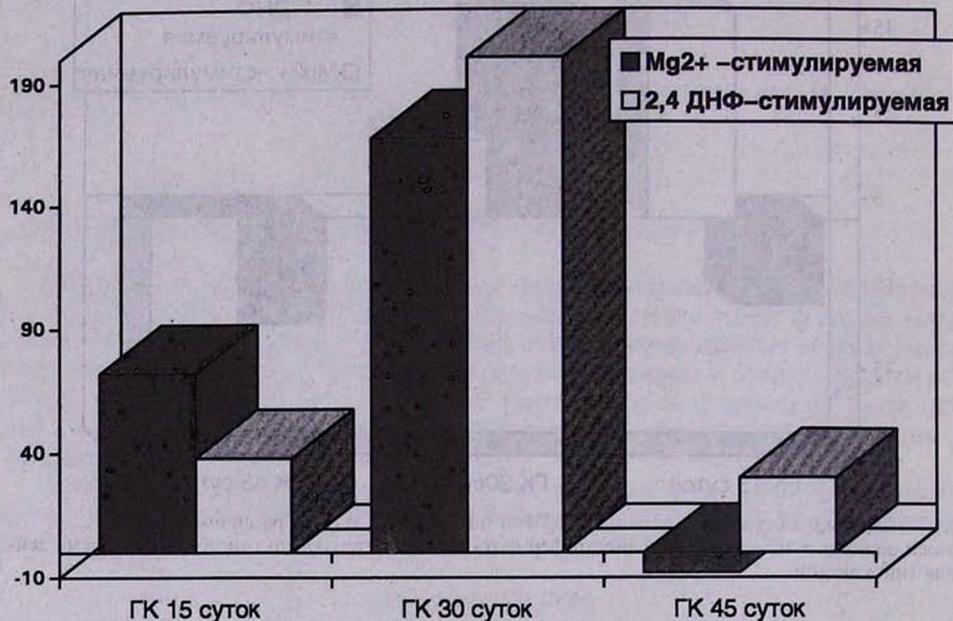


Рис. 2. Динамика сдвигов в активности АТФаз митохондрий печени в различные сроки гипокинезии.

По оси ординат — изменение активности фермента в % к контролю, по оси абсцисс — время действия гипокинезии.

О правомерности такого предположения свидетельствуют наши ранние исследования по изучению фракционного состава фосфолипидов в мозговой ткани при ГК [2]. Согласно полученным данным, при ГК и особенно в ее ранние сроки заметно возрастает (на 30%) содержание данной фракции фосфолипидов по сравнению с группой интактных животных. Не исключается также роль циркуляторной гипоксии в активации  $Mg^{2+}$ -АТФазы митохондрий мозга на ранних этапах развития синдрома ограничения двигательной активности [1]. Снижение активности  $Mg^{2+}$ -АТФазы мозга и печени на 45-е сутки ГК мы склонны объяснить не столько изменениями в липидном микроокружении фермента (тем более, что по нашим данным содержание фосфатидилэтаноламина в мозговой ткани в этот срок практически не отличается от нормы), сколько уменьшением количества белка митохондриальной фракции [2, 4].

Анализ данных в отношении изменений в активности 2,4-ДНФ-стимулируемой АТФазы, участвующей в генерации мембранного потенциала митохондрий, показывает, что данный фермент в условиях ГК в тканях мозга и печени ведет себя неоднотипно. Так, на 15- и 45-е сутки ее активность в митохондриях мозга снижена, причем почти в одинаковой степени (на 20 и 23%), в то время как на 30-е сутки наблюдается заметное повышение активности (на 50%) (таблица).

Таблица

Изменения в активности АТФаз в митохондриях мозга и печени в различные сроки ГК  
(мкмоль РН/мг белка/ч; n=12)

АТФаза	Ткань	Контроль	ГК, сутки		
			15	30	45
2,4-ДНФ-стимулируемая	мозг	0,9±0,08	0,72±0,03* t=2,1	1,35±0,06** t=4,5	0,68±0,04** t=2,4
Mg <sup>2+</sup> -стимулируемая		1,46±0,05	2,18±0,05** t=10	1,72±0,07* t=3	0,72±0,03** t=13
2,4-ДНФ-стимулируемая	печень	0,6±0,06	0,83±0,3* t=3,4	1,83±0,04** t=17	0,78±0,05* t=2,3
Mg <sup>2+</sup> -стимулируемая		0,55±0,08	0,95±0,02* t=4,8	1,47±0,09** t=7,6	0,51±0,02 t=0,5

\*p≤0,05, \*\*p≤0,01

В печени во все исследуемые сроки отмечается повышение ее активности. Обращает на себя внимание факт однонаправленности сдвигов в активности обоих ферментов в митохондриях мозга и печени на 30-е сутки ГК. Возможно, в этот срок эксперимента в обоих органах независимо от своеобразия метаболических процессов, протекающих в них, создаются однотипные условия в работе дыхательной цепи — превалирование процессов свободного окисления над фосфорилирующим, что приводит к активации АТФаз. Одной из причин такого режима дыхательной цепи митохондрий в этих условиях может быть накопление продуктов ПОЛ в митохондриальных мембранах, которые, согласно данным ряда исследователей, являются эффекторами некоторых ферментативных реакций, в частности активаторами АТФаз митохондрий [11]. Однако следует отметить, что в литературе существуют противоречивые данные в отношении направленности действия избыточных количеств продуктов ПОЛ на активность ферментов, в частности митохондриальной Mg<sup>2+</sup>-АТФазы [8, 14].

Таким образом, выявленные нами динамические сдвиги в активности АТФаз митохондрий мозга и печени во все исследуемые сроки ГК носят фазовый характер и свидетельствуют о нарушении функционального состояния митохондрий и, как следствие, энергетического обмена в клетках обоих органов. Выяв-

ленные сдвиги наиболее ярко проявляются в печени на 30-е сутки ограничения двигательной активности.

Обнаружение нарушений в энергетическом обмене предполагает необходимость применения препаратов, улучшающих энергетический обмен в условиях ГК, что и является конечной целью наших исследований. Не исключается, что нарушения энергетического обмена при длительном ограничении двигательной активности являются одной из возможных причин изменения мозговой гемодинамики, неоднократно наблюдаемой нами в собственных исследованиях.

Поступила 14.03.96

**ՕՒԼԵՆՈՒՆԵՂԻ ԵՎ ԼՅԱՐՂԻ ՄԻՏՈՔՈՆԴՐԻՈՒՄՆԵՐԻ ԱԵՖԱՁՆԵՐԻ ԱՎՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍԱԿԱՎԱՇՇԱՐԺՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ**

**Օ.Պ. Սոցկի, Վ.Պ. Հակոբյան, Կ.Ռ. Մալիյան, Լ.Վ. Եղիզարովա, Դ.Ս. Շաֆրազյան, Ա.Ա. Վասիլյան**

Սակավաշարժությունը ընկնում է օրգանիզմի հարմարողական հնարավորությունները եւ փոխում է զանազան էքսքրենայ գործոնների նկատմամբ նրա պատասխան ռեակցիաները: Օրգանիզմի հարմարողականությունը հիմնականում կախված է էներգետիկ փոփոխություններից եւ մակրոէրգերի սինթեզի արագությունից:

Մեր հետազոտությունների սակավաշարժության պայմաններում հայտնաբերել են գլխուղեղի եւ լյարդի միտոքոնդրիումներում ԱԵՖԱՁՆԵՐԻ ակտիվության մեջ դինամիկ փոփոխություններ, որոնք ունեն փուլային բնույթ եւ վկայում են միտոքոնդրիումների ֆունկցիոնալ վիճակի խանգարումների, հետեւաբար քրիջներում էներգետիկ փոփոխությունների մասին: Ամենաարտահայտված փոփոխությունները հայտնաբերվել են լյարդում 30-օրյա սակավաշարժության պայմաններում:

**THE ATPase ACTIVITY OF MITOCHONDRIA OF THE BRAIN AND LIVER IN VARIOUS PERIODS OF HYPOKINESIA**

**O.P. Sotski, V.P. Hakopian, K.R. Mailian, L.V. Yedigárova, D.S. Shafrazan, A.A. Vasilian**

The results of the influence of various periods of hypokinesia on the activity of the  $Mg^{2+}$  and 2,4-dinitrophenol (DNP) - stimulated ATP-ases of mitochondria of the brain and liver are shown. It has been established that in all periods of hypokinesia visible divergences in ATPase activity in comparison with intact rats are observed. The changes in ferments activity have a phase character and are more significant in the periods of hypokinesia, when there are more pronounced shifts in the metabolic processes, particularly in the liver on the 30th day of hypokinesia.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. *Акопян В.П. и др.* В сб.: Материалы рабочего совещания по междисциплинарной программе "Мозговое кровообращение", СПб, 1995, с.1.
2. *Акопян В.П. и др.* Экспер. и клин. мед. НАН РА, 1994, 34, 4, с.74.
3. *Бурлакова Е.Б.* В сб.: Липиды: структура, биосинтез, превращения и функции. М., 1977, с.16.
4. *Ганин Ю.А.* В сб.: Изменения метаболизма у животных при гипокинезии. Ярославль, 1984, с.4.

5. *Говорова Л.В.* Влияние экспериментальной гипоксии на АТФ-азную активность ядер и митохондрий мозга, печени и сердца. *Вопр. мед.химии*, 1977, 23, 3, с.302.
6. *Ещенко Н.Д.* В кн.: *Методы биохимических исследований*. Л., 1982, с.29.
7. *Меерсон Ф.З.* В кн.: *Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца*. М., 1984, с.102.
8. *Миринова Г.Д., Сирота Г.В.* В кн.: *Биофизика сложных систем и радиационных нарушений*. М., 1977, с.228.
9. *Панин Л.Е.* В кн.: *Биохимические механизмы стресса*. Новосибирск, 1983, с.231.
10. *Тигранян Р.А.* В сб.: *Метаболические аспекты проблемы стресса в космическом полете*. М., 1985, 52, с.11.
11. *Якушев В.С., Давыдов В.В.* Фосфолипиды митохондрий и активность их мембраносвязанных ферментов при развитии некроза миокарда у крыс после стресса. *Укр.биохим.ж.* 1982, 54, 4, с. 389.
12. *Якушева И.А., Орлова Л.И.* Метод определения активности аденозинтрифосфатаз в гемолизатах эритроцитов крови человека. *Лаб.дело*, 1970, 8, с. 497.
13. *Lowry O.H., Rosenbrough et al.* *J.Biol. Chem.*, 1951, 193, 265.
14. *Ventura C., Guarnieri C., Caldarera C.M.* *Ital. J. Biochem.*, 1985, 34, 4, 267.

