

ными нами обнаружено не было. Наблюдалась лишь тенденция в сторону увеличения содержания холесте-

рина в плазме крови, составившая у самцов 16%, а у самок 18% ($P > 0.05$).

Таблица 2. Содержание холестерина в плазме крови животных разных возрастных групп в условиях введения витамина Е (г/л)

Характер воздействия	Число особей		M±m	
	♂	♀	Самцы	Самки
			Неполовозрелые	
Контроль	12	10	1,06±0,091	1,08±0,081
Витамин Е (1мг/100 г)	10	10	0,99±0,204	0,96±0,085
Витамин Е (2мг/100 г)	10	10	0,96±0,090	1,02±0,073
			Молодые половозрелые	
Контроль	10	10	1,23±0,098	1,27±0,112
Витамин Е (1мг/100 г)	10	10	1,21±0,099	1,25±0,208
Витамин Е (2мг/100 г)	10	10	1,29±0,123	1,41±0,119
			Старые	
Контроль	7	8	1,61±0,103 ^{#+}	1,58±0,018 [#]
Витамин Е (1мг/100 г)	7	7	1,66±0,214	1,60±0,121
Витамин Е (2мг/100 г)	8	8	1,53±0,096	1,45±0,211

Примечание

Сравнение с неполовозрелыми: # - $P < 0,05$

Сравнение с молодыми половозрелыми: + - $P < 0,05$

У старых животных содержание холестерина было выше как по сравнению с неполовозрелыми, что составило у самцов 52%, а у самок 46% ($P < 0.05$ в обоих случаях), так и относительно молодых половозрелых животных, особенно у самцов, по сравнению с которыми содержание холестерина было выше на 31% ($P < 0.05$). У самок в этом случае содержание холестерина увеличилось на 24% ($P > 0.05$).

Введение витамина Е, как и в случае с общими липидами, существенного влияния на уровень холестерина в плазме крови не оказало.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о достаточно высокой стабильности показателей липидного обмена в плазме крови.

ИЗМЕНЕНИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА У САМОК И САМЦОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Леонтьев Д.С., Быкова И.Ю.,

Кондрашова М.Н.*, Анищенко Т.Г.

Саратовский государственный университет

им. Н.Г.Чернышевского, Саратов.

* *Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пуццино*

Преодоление неблагоприятных факторов сопряжено с 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 с 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 ($p < 0,05$). В экспериментах, проведенных в весенний сезон (март, апрель), различия в скорости разобщенного дыхания проявлялись в еще большей степени. Процент активации дыхания на добавку ра-

зобшителя (С1-ССР) составлял для самок 85%, а для самцов 37% ($p < 0,05$).

Острый стресс привел к усилению окисления сукцината митохондриями самцов на 62% ($p < 0,05$). В отличие от самцов у самок такого заметного усиления не произошло. У самцов, увеличилась и интенсивность разобщенного С1-ССР окисления сукцината на 56% ($p < 0,05$).

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 ($p < 0,05$). 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 ($p < 0,05$). Острый стресс привел к повышению активности АТФ-азы у самок на 96% ($p < 0,05$) а у самцов на 100% ($p < 0,05$).

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).

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНАЛОГА ПЕПТИДА
СЛИЯНИЯ ИЗ ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВИРУСА
ГРИППА С ФОСФОЛИПИДНЫМИ
ЛИПОСОМАМИ: ИЗУЧЕНИЕ
МЕТОДОМ ³¹P-ЯМР**

Лесовой Д.М., Жмак М.Н.,

Люкманова Е.Н., Дубовский П.В.

*Институт биоорганической химии
им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, 117997,
Москва*

Пептиды слияния – фрагменты вирусных белков, состоящие из 20-25 аминокислот, способные вызы-

вать слияние липидных и биологических мембран [1]. При изучении этих процессов удобно работать с водорастворимыми аналогами. Нами сконструирован аналог F31, состоящий из 31-го аминокислотного остатка: G L F G A I A G F I E G G W T G M I D G W Y - G Y G G G K K K K .

С-концевой фрагмент GCGKKK обеспечивает водорастворимость пептида, а N-концевая часть (остатки 1-24) соответствует пептиду слияния из гемагглютиниона (штамм A/PR/8/34). В пептиде имеется только один остаток глутаминовой кислоты (Glu11). Цель данной работы – изучить влияние пептида F31 на фосфолипидные липосомы при различных состояниях ионизации этого остатка. С учётом данных по величинам рK_a остатков Glu в пептидах слияния, находящихся в мембранном окружении, есть основания считать, что при изменении pH от 7 до 4 с большой долей вероятности происходит протонирование боковой карбоксильной группы этого остатка. Поэтому нами взяты эти значения pH как такие, при которых остаток полностью заряжен (pH 7) и нейтрален (pH 4), соответственно. Фосфолипидные липосомы формировались из анионного фосфолипида диолеоилфосфатидилглицерина (ДОФГ). Т.к. заряд пептида в целом положителен при обоих значениях pH (4 и 7), это обеспечивает эффективное связывание с поверхностью липосом за счёт электростатического притяжения. Следовательно, изменение характера влияния пептида на липосомы при изменении pH от 7 до 4 будет означать изменение характера гидрофобного взаимодействия пептида с липосомами, вероятно, за счёт изменения глубины проникновения пептида в фосфолипидный бислой и/или характера ассоциаций пептидов на липосомах.

Наиболее удобным методом для исследования взаимодействий липид/пептид является метод ³¹P-ЯМР спектроскопии широких линий. Данный метод позволяет работать с бислойными мультиламеллярными липосомами, которые более адекватно моделирует биологическую мембрану. Показано, что форма линии ³¹P-ЯМР спектров мембран чувствительна к анизотропным движениям молекул фосфолипидов [2, 3], что позволяет следить за изменениями состояния модельной мембраны под воздействием пептида.

Для изучения pH-зависимости взаимодействия были проведены серии экспериментов при pH 4 и 7. Проанализировав полученные ³¹P-ЯМР спектры с помощью разработанной нами программы P-FIT [4], были получены зависимости параметров, характеризующих состояние бислоя в зависимости от соотношения липид/пептид.

При pH 4 наблюдается значительное влияние пептида на состояние бислоя. Так, при последовательном добавлении пептида, начиная с соотношения липид/пептид 40:1 происходит формирование второй анизотропной составляющей. Данная составляющая характеризуется уменьшенным значением анизотропии химического сдвига а также уменьшенным значением степени деформации липосом магнитным полем спектрометра, что связано с уменьшением эластичности мембраны. При уменьшении соотношения липид/пептид от 40:1 до 15:1 происходит рост вклада этой составляющей от ~15% до ~50%. Также стоит