

УДК 577.23, 57.084.1

РЕЦЕПТОРНЕЗАВИСИМОЕ ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ОПОСРЕДОВАНО ПРОДУКТАМИ ДЕЗАМИНИРОВАНИЯ ГОРМОНА МОНОАМИНОКСИДАЗОЙ А

Микенькина М.А. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия), **Погонялова М.Ю.** (Лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия), **Тагунов П.А.** (Лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия)
Научный руководитель – канд. техн. наук Винокуров А.Ю. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия)

В данной работе представлены результаты оценки механизма влияния адреналина на интактные митохондрии и протекающий в них процесс окислительного фосфорилирования.

Введение. Митохондрии (МХ) играют ключевую роль в патогенезе широкого спектра заболеваний, что, в первую очередь, связано с дисфункцией энергетического обмена и увеличением производства активных форм кислорода. Адреналин выступает важным элементом регуляции биоэнергетических процессов, для которого наиболее изучен рецепторный механизм действия через образования вторичного мессенджера – циклического АМФ. Адреналин связывается с рецепторами клеток, запуская процесс фосфорилирования гликогена и ингибируя его синтез, в результате чего образуется глюкоза, которая выделяется в кровь и используется клетками для получения пирувата и синтеза АТФ при расходовании последнего в цикле Креббса. Однако в настоящее время развиваются направления исследований, показывающие значительное влияние адреналина на энергетические процессы клетки через рецепторнонезависимый путь, представляющий из себя непосредственное взаимодействие катехоламина с внутриклеточными структурами, в частности связанный с окислительным дезаминированием адреналина под действием моноаминоксидазы А (МАО-А), расположенной на внешней мембране МХ. При этом остается неизученным вопрос о том, какие внутриклеточные пути задействованы в этом процессе.

В связи с этим, целью данной работы выступила оценка эффекта адреналина на протекающее в МХ окислительное фосфорилирование при непосредственном контакте с МХ.

Основная часть. Исследования были проведены на суспензии интактных МХ, полученных по стандартному протоколу из ткани печени крыс линии Wistar (самцы возрастом 2 месяца). Исследования соответствовали этическим нормам по гуманному обращению с животными и одобрены Этическим комитетом Орловского государственного университета имени И.С. Тургенева (протокол №18 от 21.02.2020). Для обеспечения максимального сохранения функциональности полученных органелл все манипуляции по выделению МХ производили при охлаждении. Определение параметров дыхания и фосфорилирующей способности МХ проводили по поглощению ими кислорода, концентрацию которого в среде исследования регистрировали полярографическим методом с применением кислородного электрода Кларка. На основании каждой полярограммы рассчитывали параметры дыхания МХ по Б. Чансу: V_3 – скорость потребления кислорода МХ в присутствии субстратов, ортофосфата и АДФ (происходит окисление субстратов, энергизация МХ, связанная с транспортом протонов в межмембранное пространство, и синтез АТФ, опосредованный их последующим возвратом в матрикс через АТФ-синтазу); V_4 – скорость потребления кислорода в присутствии субстрата окисления и ортофосфата после полного расходования АДФ; V_3/V_4 – дыхательный контроль, отражающий зависимость митохондриального окисления от концентрации АДФ; АДФ/О – параметр, отражающий эффективность работы дыхательной цепи МХ, рассчитываемый как

отношение молярного количества добавленного АДФ к количеству потребленного кислорода. В качестве субстратов дыхания были применены 5 мМ глутамата / 2,5 мМ малата (субстрат I комплекса электрон-транспортной цепи МХ), а также 5 мМ сукцинат / 5 мкМ ротенон (субстрат II комплекса).

Исследования показали, что в наибольшей степени эффект адреналина проявляется при изучении дыхания МХ в присутствии субстрата II комплекса – сукцината и ингибитора I комплекса ротенона. Было установлено, что характер влияния адреналина на дыхание МХ зависит от концентрации катехоламина. При содержании, более близком к физиологическому (500 нМ), имеет место увеличение параметров V_3 и V_3/V_4 и уменьшение АДФ/О. При существенно более высоком содержании адреналина (3,3 мкМ) наблюдается обратное действие. При внесении в систему селегилина, который при концентрации 20 мкМ ингибирует как MAO-A, так и MAO-B, влияние адреналина практически полностью отсутствует и значения параметров дыхания возвращаются к контрольным. Это может свидетельствовать о том, что адреналин действительно оказывает влияние на параметры дыхания интактных МХ через MAO.

Выводы. Было выявлено наиболее значимое влияние адреналина на работу II комплекса электрон-транспортной цепи МХ. Вероятнее всего, механизм действия осуществляется через продукты окислительного дезаминирования катехоламина под действием MAO-A. Продуктами первичного окислительного дезаминирования адреналина под действием MAO-A являются соответствующий альдегид и перекись водорода. Учитывая, что в работе использовалась только суспензия МХ, можно предположить:

1. увеличение образования перекиси водорода приводит к повышенному окислению глутатиона, который образует конъюгаты с белками, снижая их активность;
2. альдегиды могут оказывать влияние на транспортную систему в мембране МХ, ингибируя активность сукцинатдегидрогеназы или цитохром-с-оксидазы.

В качестве дальнейшей работы планируется проведение дополнительных исследований по определению влияния перекиси водорода на дыхание митохондрий и изменению митохондриального FAD при внесении адреналина в систему.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации №075–15–2019–1877.