

ВЛИЯНИЕ ГИБЕРНАЦИИ НА ЛИПИДЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ ЯКУТСКОГО СУСЛИКА *Spermophilus undulatus*

© 2017 г. Н.И. Перепелкина, Л.А. Фиалковская, И.К. Коломийцева

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пушино Московской области, ул. Институтская, 3

E-mail address: ikolomizeva2@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.09.15 г.

После доработки 02.02.16 г.

Показано, что в сезон зимней спячки якутского суслика *S. undulatus* в митохондриальной фракции печени количество фосфолипидов увеличено на 60%, фосфолипидный состав у спящих животных характеризуется увеличением фосфатидилэтаноламина по сравнению с летними. Обнаружен резкий рост количества холестерина, а также жирных кислот, моноглицеридов и диглицеридов в митохондриальной фракции гибернирующих сусликов по отношению к летним. Функциональные изменения при гибернации касаются количества фосфатидилсерина (рост у спящих животных по сравнению с активными). Сезонная модификация липидного состава митохондрий печени, в частности рост количества холестерина, может играть роль в устойчивости митохондрий к сезонному увеличению количества жирных кислот в печени. Липиды митохондриальной фракции печени принимают участие в адаптации сусликов к сезону зимней спячки.

Ключевые слова: зимняя спячка, печень, митохондрии, холестерин, фосфолипиды.

Воздействие экстремальных факторов окружающей среды, например низких температур в зимний период и бескормицы, переживаются некоторыми видами млекопитающих путем погружения в гипобиоз – зимнюю спячку (гибернацию). Во время зимней спячки животное длительно находится в оцепенении, при температуре тела до 4–2°C (баут спячки), прерываемом систематическими короткими пробуждениями (интербаут) с возвращением к температуре тела 37°C [1,2]. Липиды играют важную роль в регуляции гибернации [3,4]. Разнообразные экотермы – от микроорганизмов до рыб – отвечали на снижение температуры окружающей среды ростом количества ненасыщенных жирных кислот в фосфолипидах, снижением количества холестерина и ростом доли фосфатидилэтаноламина. Эти наблюдения послужили основанием для представлений об участии вязкостных свойств мембран в адаптации организма к низким температурам окружающей среды [5–7]. Однако характер изменений липидного состава органов, тканей и клеточных органелл зимоспящих млекопитающих не укладывался в рамки такой интерпретации [7–9]. Особенностью обмена липидов является высокая степень компартментализации метаболизма между различными мембранными структурами клетки [10]. Печень – центральный орган энергетического

метаболизма и липогенеза [11]. Печень играет важную роль в выживаемости гибернантов [12]. Представляет интерес исследование влияния гибернации на липиды митохондрий, с учетом роли нейтральных липидов – холестерина и свободных жирных кислот, а также моно- и диглицеридов и индивидуальных фосфолипидов в функциях органелл. Для выяснения роли липидов в адаптации млекопитающих к экстремальным условиям среды обитания мы исследовали влияние сезона и баута гибернации на количество липидов и фосфолипидный состав митохондрий печени. Якутский суслик *S. undulatus* хорошо приспособлен к переживанию в условиях короткого жаркого лета и низких температур долгой зимы [13]. Установлено, что в сезон гибернации митохондриальная фракция печени сильно обогащена холестерином, жирными кислотами, моно- и диглицеридами. Количество фосфолипидов существенно увеличено, хотя изменения фосфолипидного состава незначительны. Можно предположить, что сезонная модификация липидного состава митохондрий печени имеет адаптивный характер, в тесной связи с переходом энергетического метаболизма на использование липидов взамен углеводов и ростом количества жирных кислот и глицеридов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Половозрелых сусликов *S. undulatus* обоих полов, массой тела 400–800 г, отлавливали ле-

Сокращение: МАМ – митохондрий-ассоциированные мембраны.

том в районе Якутска. Условия содержания в виварии, мониторинг температуры тела и способы отбора материала описаны нами ранее [14]. Сусликов содержали в стандартных условиях вивария ИБК РАН (температура воздуха 20–21°C, влажность 65%) в индивидуальных клетках и естественном освещении. Гнездовой материал и пищу давали *ad libitum*. В ноябре перед вхождением в спячку сусликов переносили в темное помещение с температурой 1–3°C и размещали в деревянных боксах размером 20 × 20 × 25 см. Для регистрации состояния животных в подстилку гнезд были смонтированы термодатчики. Температура «подстилки» у гибернирующих животных была примерно 2–4°C, а при выходе животных из спячки поднималась до 12–16°C. Все процедуры с животными проводили в соответствии с требованиями комиссии по этике ИБК и Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (European Communities Council Directive (86/609/EEC)). Зимние суслики, находящиеся в состоянии спячки, были разделены на две группы: группа 1 – спящие животные, которых декапитировали в середине бауга при температуре тела от 1 до 7°C (средняя температура тела 4,2°C); группа 2 – активные зимние суслики. Сусликов декапитировали с помощью гильотины согласно принятым в Институте биофизики клетки РАН правилам [15]. Активных животных забивали через 10–12 ч после пробуждения, при температуре тела 37°C. После декапитации температуру тела сусликов оценивали с помощью датчика электротермометра в области сердца. Печень гомогенизировали в 0,25 М растворе сахарозы, 1 мМ ЭДТА, pH 7,4, 1 : 10 по объему в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком. Митохондриальную фракцию получали методом дифференциального центрифугирования при 5000 g в течение 10 мин, промывали половинным объемом среды выделения [16]. Чистоту фракции оценивали с помощью маркерных ферментов по стандартным методикам. В митохондриальной фракции (по активности глюкозо-6-фосфатазы) примесь микросомальной мембраны была не более 5,2%; примесь плазматической мембраны (по активности 5'-нуклеотидазы) – не более 10% от активности этих ферментов в гомогенате. Аликваты использовали для определения количества белка. Липиды экстрагировали двадцатикратным объемом смеси хлороформ : метанол в соотношении 2 : 1 по объему и промывали по Фолчу [17]. Фосфолипиды разделяли методом тонкослойной хроматографии на силикагеле Н (60 × 0,2 мм, Merck, Германия) в системе метилацетат : *n*-пропанол : хлороформ : метанол : 0,25% KCl (в соотношении 25 : 25 : 25 : 10 : 9 по объему) [18]. Количество фосфолипидов

определяли по неорганическому фосфору после их сжигания [19]. Нейтральные липиды разделяли на силикагеле L (5/40) в системе гексан : этиловый эфир : уксусная кислота, (в соотношении 73 : 25 : 2 по объему) [20]. Жирные кислоты, моно- и диглицериды определяли озолением по Маршу [21], для построения калибровочной кривой использовали арахидоновую кислоту. Количество холестерина определяли по реакции Либермана–Бурхарда [22], количество белка – по Лоури [23]. Количество фосфолипидов рассчитывали по калибровочной кривой с ортофосфатом, переводили в мкг умножением на 25 (из расчета 800 для усредненного молекулярного веса фосфолипидов). Величины относили к мг белка фракций. Достоверные различия оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA Tukey Test. Приведены средние значения ± стандартная ошибка.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Количество белка митохондриальной фракции на 1 г печени суслика *S. undulatus* в зависимости от сезона и периода гибернации не изменялось (табл. 1). В сезон гибернации в митохондриальной фракции печени активных и спящих животных количество общих фосфолипидов на 1 мг белка фракции возросло более чем на 60% по сравнению с летними. При этом количество фосфатидилхолина увеличилось на 56%, кардиолипина – на 54%, фосфатидилэтаноламина – на 90%. Количество фосфатидилсерина несколько уменьшилось у активных сусликов по сравнению с летними и возросло у спящих сусликов по сравнению с активными. Количество холестерина в митохондриальной фракции печени зимних сусликов увеличено в три раза, жирных кислот – в семь раз, моноглицеридов – в два раза и диглицеридов – в три раза по сравнению с летними. Молярное отношение холестерин/фосфолипиды увеличено в митохондриальной фракции у зимних сусликов в два раза (табл. 1). Гибернация мало влияла на фосфолипидный состав митохондриальной фракции печени. Достоверно возросла только молярная доля фосфатидилэтаноламина у спящих сусликов по сравнению с активными зимними животными (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Фосфолипиды митохондрий играют важную роль в энергетическом и липидном обмене и апоптозе [24]. В митохондриях синтезируются кардиолипиды, лизофосфатидная и фосфатидная кислоты, декарбоксилированием фосфатидилсерина образуется фосфатидилэтаноламин для нужд всей клетки [10]. Фосфолипидный состав

Таблица 1. Влияние сезона и периода гибернации на количество липидов (мкг липида на 1 мг белка) в митохондриальной фракции печени якутского суслика *S. undulatus*

Липиды	Летние суслики, температура тела 37°C	Зимние суслики	
		Активные, температура тела 37°C	Спящие, температура тела 4°C
Общие фосфолипиды	201,2 ± 9,4	349,0 ± 18,3*	321,4 ± 21,6*
Сфингомиелин	5,8 ± 1,4	5,4 ± 0,8	6,5 ± 0,7
Фосфатидилхолин	83,2 ± 0,4	129,8 ± 8,4*	128,6 ± 11,5*
Фосфатидилсерин	7,0 ± 1,5	6,4 ± 0,5*	8,2 ± 0,2#
Фосфатидилинозитол	21,3 ± 3,8	24,7 ± 1,0	20,4 ± 1,7
Кардиолипин	24,1 ± 2,5	37,2 ± 2,8*	36,2 ± 2,6*
Фосфатидилэтаноламин	65,7 ± 5,2	124,8 ± 9,0*	122,9 ± 7,3*
Холестерин	3,8 ± 0,2	11,4 ± 0,8*	12,5 ± 0,9*
Жирные кислоты	8,7 ± 0,9	63,1 ± 10,1*	62,5 ± 14,7
Моноглицериды	4,8 ± 0,6	10,7 ± 1,6*	13,7 ± 1,2*
Диглицериды	2,6 ± 0,2	7,4 ± 0,5*	9,0 ± 1,1*
Холестерин/фосфолипиды, моль/моль	0,037 ± 0,004	0,066 ± 0,008*	0,080 ± 0,008*
Белок, мг на 1 г ткани	10,2 ± 0,8	11,2 ± 1,4	12,4 ± 0,6

Примечание. В этой и в следующей таблице число экспериментов $n = 4$; * – различие достоверно по сравнению с летними животными, $p < 0,05$, # – различие достоверно по сравнению со спящими животными, $p < 0,05$.

Таблица 2. Влияние сезона и периода гибернации на фосфолипидный состав (в % к общему содержанию фосфолипидов) митохондриальной фракции печени суслика *S. undulatus*

Липиды	Летние суслики, температура тела 37°C	Зимние суслики	
		Активные, температура тела 37°C	Спящие, температура тела 4°C
Сфингомиелин	2,9 ± 0,7	1,5 ± 0,25	2,0 ± 0,15
Фосфатидилхолин	41,6 ± 2,2	37,2 ± 1,9	40,3 ± 3,7
Фосфатидилсерин	3,5 ± 0,8	1,9 ± 0,25	2,5 ± 0,18
Фосфатидилинозитол	10,6 ± 1,9	7,1 ± 0,2	6,3 ± 0,3
Кардиолипин	12,0 ± 1,1	10,7 ± 0,6	11,3 ± 0,4
Фосфатидилэтаноламин	32,5 ± 1,3	35,6 ± 0,8	38,4 ± 1,9*

митохондрий печени суслика *S. undulatus* совпадает с фосфолипидным составом митохондрий печени крыс [25]. Суммарное количество фосфолипидов, глицеридов и жирных кислот достигает 30% от массы белка митохондрий печени. Фосфолипиды составляют основную часть (до 90%) липидов митохондрий. Массовыми фосфолипидами являются фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин, третьим по величине вклада в фосфолипиды митохондрий выступает фосфатидилинозитол. Только митохондриям и ядрам свойственен кардиолипин, локализованный главным образом во внутренней мембране, его доля в липидах митохондрий печени суслика составила примерно 10% от

общих фосфолипидов митохондрий, как это показано и для митохондрий печени других млекопитающих [25,26]. В состоянии гипобиоза при гибернации (спящие животные) в митохондриях печени происходит подавление потребления кислорода (на 70% от нормотермии) и угнетение окислительного фосфорилирования [27,28]. Роль фосфолипидов и ферментов обмена фосфолипидов, в частности фосфолипазы A_2 , в подавлении функции митохондрий печени в состоянии оцепенения при бауте спячки анализировалась в ряде работ [29,30]. Преходящее увеличение степени ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов митохондрий было отмечено у сусликов, выходящих из спячки. Этот

феномен рассматривается как свидетельство роли жирных кислот фосфолипидов в модуляции энергопродукции митохондрий [24,31]. Энергетический метаболизм митохондрий печени активных зимних сусликов неотличим от летних. У спящих зимних сусликов подавлены потребление кислорода и окислительное фосфорилирование по сравнению с нормотермными животными – летними и активными зимними [27–29]. Как видно из табл. 2, в бауте спячки в фосфолипидном составе митохондриальной фракции печени увеличивается доля фосфатидилэтаноламина по сравнению с летними сусликами, однако отличие от зимних активных сусликов недостоверно. Фосфатидилэтаноламин снижает вязкость мембран [6], рост его доли в фосфолипидном составе может рассматриваться как участие фосфатидилэтаноламина в адаптации митохондрий печени к гипобиозу. Отсутствие глубоких изменений фосфолипидного состава митохондрий печени было показано при гибернации и на другом виде сусликов. Отличия выявляются в динамике баута, при выходе животных из оцепенения. Полагают, что жирнокислотная часть молекулы фосфолипидов участвует в remodelировании митохондриальной мембраны в ходе пробуждения от спячки [31].

Гораздо более существенные различия под влиянием гибернации получены для соотношения фосфолипид/белок. Гибернация не влияла на количество белка митохондриальной фракции (табл. 1). В митохондриальной фракции печени при гибернации якутского суслика на 60% росло количество общих фосфолипидов (мкг фосфолипида на 1 мг белка фракции) за счет увеличения фосфатидилэтаноламина, фосфатидилхолина и кардиолипина. У активных зимних животных количество фосфатидилсерина уменьшено по сравнению с летними, а у спящих количество фосфатидилсерина несколько увеличено по сравнению с активными зимними. Таким образом, только для фосфатидилсерина отмечено влияние функционального состояния (баут–интербаут) на фосфолипиды митохондрий (табл. 1). Состояние подавления энергопродукции митохондрий при гипобиозе в условиях положительных температур (эстевации) двоякодышащей африканской рыбы *Protopterus dolloi* сопровождалось резким (в 2,3 раза) уменьшением количества общих фосфолипидов и фосфатидилэтаноламина, а также падением количества кардиолипина в митохондриях печени с исчезновением субъединицы 1 цитохром *c*-оксидазы [32]. Структура и активность цитохром *c*-оксидазы зависит от кардиолипина [33]. Изменения фосфолипидов митохондрий печени при гибернации якутского суслика носят принципиально другой характер. Увеличение количества фосфолипидов в мито-

хондриях печени якутского суслика в сезон гибернации свидетельствует о глубоких изменениях белок/фосфолипидных взаимодействий. Можно предположить, что в основе роста количества фосфолипидов в митохондриях лежат изменение профиля или структуры белков.

Глубокое подавление синтеза одних белков при одновременной активации дифференциальной экспрессии генов других белков (по критериям количества белка и мРНК) показаны для ядерных и митохондриальных генов митохондрий органов и тканей гибернантов [34]. Изменения экспрессии генов ряда белков рассматриваются как механизм фенотипической адаптации млекопитающих к суровым условиям окружающей среды [35]. Можно предположить, что белки митохондриальных мембран закрываются фосфолипидным панцирем для сохранения функциональной активности в ходе гибернации. Активация энергетического метаболизма митохондрий при пробуждении совпадает с ростом ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов [31]. Таким образом, изменения соотношения фосфолипид/белок, характеризующие участие головной части молекулы фосфолипида в мембране, происходят в печени сусликов при адаптации к гибернации, имеют сезонный характер и мало отличаются в бауте и интербауте, тогда как при пробуждении на первый план выступают, по-видимому, свойства жирнокислотных частей фосфолипидов. Различия количества фосфолипида на мг белка митохондриальной фракции между спящими и активными зимними животными показаны только для фосфатидилсерина. Фосфатидилсерин эндоплазматического ретикулума, поступая в митохондрии, служит источником образования фосфатидилэтаноламина [36]. Изменения количества фосфатидилсерина при спячке (табл. 1) могут быть связаны с изменениями его поступления в митохондрии, а также интенсивности декарбоксилирования у спящих животных. Митохондрии печени гибернирующих сусликов обогащаются нейтральными липидами. В митохондриях печени гибернирующих сусликов по сравнению с летними количество жирных кислот резко возрастает. Количество моно- и диглицеридов в митохондриальной фракции в сезон гибернации также увеличено в два–три раза (табл. 1). Таким образом, переход на использование жиров взамен углеводов [2,3], рост количества жирных кислот в крови и в печени [37] сопровождается специфическим ростом количества жирных кислот и их метаболитов в митохондриальной фракции печени гибернирующих сусликов. Известно, что все органы и ткани млекопитающих способны синтезировать холестерин, а лимитирующим ферментом скорости синтеза является 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А-редуктаза. Регуляция ско-

рости образования и транспорта холестерина осуществляется стерол-сенсорными белками и транскрипционными факторами, локализованными в мембранах эндоплазматического ретикула и аппарата Гольджи [38,39].

Концентрация холестерина в митохондриальных мембранах самая низкая по сравнению с мембранами других органелл. Гибернация сопровождается увеличением количества холестерина в три раза в митохондриальной фракции печени сусликов (табл. 1). Увеличение количества холестерина в митохондриях при угнетении окислительного метаболизма было обнаружено при ряде патологий печени и при раковых заболеваниях. Показана активация белка-транспортера холестерина и уменьшение количества глутатиона в митохондриях [40]. Накопление холестерина в митохондриях нейронов мышей с болезнью Нимана–Пика также сопровождается снижением синтеза АТФ [41]. Увеличение количества холестерина в митохондриях при гибернации (табл. 1) не отражается на интенсивности окислительных процессов в митохондриях печени активных (интербаунтных) зимних сусликов [27–29]. Большой интерес представляет обнаружение влияния гибернации на содержание жирных кислот в митохондриальной фракции печени суслика *S. undulatus*, где их концентрация увеличивается в семь раз по сравнению с летним периодом (табл. 1). Кардинальным эффектом гибернации является увеличение количества жирных кислот в печени и плазме крови гибернантов, обнаруженное, в частности, и у якутского суслика. Гибернация сопровождалась увеличением количества жирных кислот в крови и печени в два–три раза [37,42]. Изменение концентрации жирных кислот в клетках регулирует экспрессию некоторых генов, ответственных за липидный и энергетический метаболизм, в тесной связи с регуляцией метаболизма холестерина [43]. Что касается соотношений холестерина и жирных кислот в ткани, то возрастание количества холестерина в клетках печени через оксистеролы вызывает активацию альфа- и бета-X-рецепторов печени (LXRs), с образованием транскрипционных факторов, ответственных за транскрипцию генов, обеспечивающих синтез жирных кислот. Накопление жирных кислот рассматривается как способ защиты клеток от избытка холестерина [44]. Однако рост концентрации жирных кислот в печени гибернирующих сусликов не коррелирует с уровнем холестерина, напротив, его количество в печени активных зимних животных не отличается от летних, снижаясь у спящих сусликов на 15% по сравнению с летними [42]. В митохондриях печени гибернирующих сусликов обнаружено возрастание жирных кислот в шесть–семь раз по сравнению с летними, т.е. влияние гибернации на количество

жирных кислот в митохондриях значительно сильнее, чем на их концентрацию в печени.

Концентрация холестерина в митохондриальных мембранах самая низкая по сравнению с мембранами других органелл [10]. В этом плане возрастание в два–три раза количества холестерина, обнаруженное в митохондриальной фракции печени гибернирующих сусликов, можно, по-видимому, рассматривать в связи с ролью жирных кислот, моно- и диглицеридов и холестерина в гомеостазе мембран. Накопление холестерина в митохондриальной фракции может выступать как способ защиты мембранных структур от избытка липидов, влияющих на структуру фосфолипидного бислоя. Жирные кислоты и диглицериды, концентрация которых также возрастает при гибернации в три раза (табл. 1), способны индуцировать образование гексагональных и кубических структур в фосфолипидах [24,45]. По-видимому, накопление холестерина в условиях гибернации (высоких концентраций жирных кислот и других нейтральных липидов) не влияет на энергетические функции митохондрий, поскольку окислительные процессы в митохондриях печени интербаунтных сусликов протекали так же, как у летних [27,28]. В то же время накопление холестерина в митохондриях нейронов мышей с болезнью Нимана–Пика сопровождалось снижением синтеза АТФ [41].

Ключи для объяснения адаптивного характера увеличения количества холестерина в мембранных образованиях при гибернации могут быть найдены при рассмотрении контактных взаимодействий. В метаболизме митохондрий важную роль играет контакт митохондриальной наружной мембраны с участками мембраны эндоплазматического ретикула – с митохондрией-ассоциированными мембранами (МАМ) [46]. Расстояние между МАМ и наружной митохондриальной мембраной составляет до 10–25 нм, что позволяет белкам и липидам митохондрий прямо взаимодействовать с белками и липидами эндоплазматического ретикула [47]. МАМ участвуют в транспорте из эндоплазматического ретикула в митохондрии фосфолипидов и ионов кальция (через инозитол-3-фосфатный рецептор) путем контакта без участия везикулярного транспорта и затраты энергии [48]. Области контактов митохондрий/эндоплазматический ретикулум контролируют важные функции: стабильность митохондриальной ДНК, транспорт и экспорт фосфатидилэтаноламина, липидный состав и морфологию митохондрий [24]. МАМ сильно обогащены холестерином [49]. Можно предположить, что увеличение количества холестерина в митохондриальной фракции обусловлено возрастанием МАМ при гибернации. Однако вклад липидов МАМ в липиды митохондрий не может

объяснить трехкратное увеличение количества холестерина в митохондриях гибернирующих сусликов, поскольку с МАМ связано не более чем 10–20% поверхности наружной митохондриальной мембраны [50], а ощутимого роста белка митохондрий мы не обнаружили (табл. 1).

Функциональная роль увеличения количества холестерина может состоять в его влиянии на межмембранные контакты. Увеличение областей контактов способствуют переносу не только белков и липидов, но и ионов Са. Перегрузка митохондрий кальцием индуцирует апоптоз [50]. Показано, что холестерин служит ограничителем областей взаимодействия, тогда как некоторые белки, напротив, способствуют расширению взаимодействия [49], как и жирные кислоты и дилицериды [24,45]. Холестерин рассматривается как негативный регулятор взаимодействия МАМ с митохондриальной мембраной [49]. Синтез фосфатидилэтаноламина в митохондриях обеспечивает потребность клетки в этом фосфолипиде и происходит путем контактного переноса фосфатидилсерина из МАМ в митохондрии и его последующим декарбок-силированием в митохондриях [46]. Возрастные количества фосфатидилсерина в митохондриях спящих сусликов при отсутствии изменений количества фосфатидилэтаноламина (табл. 1) можно приписать также усилению межмембранных контактов у спящих сусликов. Таким образом, увеличение количества холестерина в митохондриальной фракции печени может рассматриваться как мембранная адаптация к росту количества жирных кислот, моно- и дилицеридов в митохондриях в условиях гибернации для снижения влияния этих соединений на организацию мембранных фосфолипидов. Жирные кислоты с высокой эффективностью взаимодействуют с мембранами, изменяя проницаемость и межмембранные взаимодействия [51]. Повышение количества жирных кислот, моно- и дилицеридов в митохондриальной фракции печени (табл. 1) гибернирующих сусликов могло обусловить рост количества холестерина для сохранения гомеостаза мембран.

Можно предположить, что изменения липидного состава имеют адаптивный характер и направлены на регуляцию межмембранных взаимодействий и обеспечение устойчивости организма к режиму гибернации. Известно, что ряд органов и печень гибернирующих сусликов значительно более устойчивы к реперфузии и хранению на холоде, чем органы летних сусликов [52]. Как подчеркивается в работе [53], важнейшей особенностью фенотипа млекопитающих, способных переносить многодневное существование в условиях от низких плюсовых до минусовых значений температур и короткое – до двух суток – пребывание при нормотермии, является устойчивость их органов и

тканей к повреждающим воздействиям. Можно полагать, что сезонные изменения липидов митохондриальной фракции печени якутского суслика связаны с мембранной адаптацией к переходу на использование липидов в качестве субстратов энергетического обмена, происходят в период подготовки к гибернации и играют роль в устойчивости печени и гибернантов к экстремальным условиям окружающей среды.

Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией механизмов природных гипометаболических состояний ИБК РАН к.б.н. Н.М. Захаровой за предоставление тканей печени суслика.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 09-04-00993а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Н. И. Калабухов, *Спячка млекопитающих* (Наука, М., 1985).
2. С. Р. Lyman, J. S. Willis, A. Malan, et al., *Hibernation and Torpor in Mammals and Birds* (Acad. Press, N. Y., 1987).
3. J. Dark, *Annu. Rev. Nutr.* **25**, 469 (2005).
4. И. К. Коломийцева, *Биохимия* **76**, 1604 (2011).
5. Е. М. Крепс, *Липиды клеточных мембран* (Наука, М., 1981).
6. J. R. Hazel, *Annu. Rev. Physiol.* **7**, 19 (1995).
7. Л. П. Смирнов и В. В. Богдан, *Липиды в физиолого-биохимических адаптациях эктотермных организмов к абиотическим и биотическим факторам среды* (Наука, М., 2007).
8. Н. V. Carey, M. T. Andrews, and S. L. Martin, *Physiol. Rev.* **83**, 1153 (2003).
9. D. J. Pehowich, P. M. Macdonald, R. N. McElhaney, et al., *Biochemistry* **27**, 4632 (1988).
10. G. van Meer, D. R. Voelker, and G. W. Feigenson, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9** (2), 112 (2008).
11. L. Rui, *Compr. Physiol.* **4**, 177–197 (2014).
12. J. A. Baker and F. van Breukelen, *Comp. Hepatology* **8**, 2 (2009).
13. А. И. Ануфриев и И. С. Васильев, в сб. *Адаптация животных к холоду*, под ред. Н. Г. Соломонова (Наука, Новосибирск, 1990), сс. 15–21.
14. И. К. Коломийцева, Н. И. Перепелкина, И. В. Патрушев и др., *Биохимия* **68**, 954 (2003).
15. А. А. Кудрявцева, *Регламентация работы с лабораторными животными* (НЦБИ АН СССР, Пушчино, 1983).
16. D. Johnson, H. Lardy, in *Methods in enzymology*, Ed. by N.W. Estabrook and M.E. Pullman (Acad. Press, New-York, 1967), Vol. 10, pp. 94–102.
17. J. Folch, M. Lees, and G. H. Sloane-Stanley, *J. Biol. Chem.* **226**, 497 (1957).
18. F. Vitiello and J. B. Zanetta, *J. Chromatography* **166**, 637 (1978).

19. I. Gerlach and B. Deuticke, *Biochem. Zeitschrift* **337**, 477 (1963).
20. М. И. Прохорова и З. Н. Тупикова, в сб. *Большой практикум по углеводному и липидному обмену* (Изд-во ЛГУ, Л., 1965), сс.181–188.
21. J. B. Marsh and D. B. Weinstein, *J. Lipid Res.* **7**, 574 (1966).
22. W. H. Sperry and M. Webb, *J. Biol. Chem.* **187**, 97 (1950).
23. O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, et al., *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
24. C. Osman, D. R. Voelker, and T. J. Langer, *Cell Biol.* **192**, 7 (2011).
25. A. Colbeau, J. Nachbaur, and P. M. Vignais, *Biochim. Biophys. Acta* **249**, 4622 (1971).
26. G. Barceló-Coblijn and E. J. Murphy, *Lipids* **43**, 971 (2008).
27. C. Armstrong and J. F. Staples, *J. Comp. Physiol. B* **180** (5), 77583 (2010).
28. N. I. Fedotcheva, E. G. Litvinova, S.V. Kamzolova, et al., *CryoLett.* **31** (5), 392 (2010).
29. Н. Н. Брустовецкий, З. Г. Амерханов, М. В. Егорова и др. *Биохимия* **56** (5), 947 (1991).
30. A. K. Woods and K. B. Storey, *Cell. Mol. Biol. Letters* **12**, 621 (2007).
31. C. Armstrong, R. H. Thomas, E. R. Price, et al., *Physiol. Biochem. Zool.* **84** (4), 438 (2011).
32. N. T. Frick, J. S. Bystriansky, Y. K. Ip, et al., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **298**, R608 (2010).
33. E. Sedlak and N. C. Robinson, *Biochemistry* **38**, 14966 (1999).
34. D. S. Hittel and K. B. Storey, *J. Exp. Biol.* **205**, 1625 (2002).
35. H. K. Srere, L. C. H. Wang, and S. L. Martin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 7119 (1992).
36. J. E. Vance and Y. J. Shiao, *Anticancer Res.* **16** (3), 1333 (1996).
37. N. N. Brustovetsky, M. V. Egorova, D. Yu. Gnutov, et al., *FEBS Lett.* **305**, 15 (1992).
38. M. S. Brown and J. L. Goldstein, *Cell* **89**, 331 (1997).
39. J. Faitova, D. Krekac, R. Hrstka, and B. Voitesek, *Moll. Cell. Biol. Lett.* **11**, 488 (2006).
40. M. Mari, A. Morales, A. Colell, et al., *Redox Biol.* **3**, 100 (2014).
41. W. Yu, J-S. Gong, M. Ko, et al., *J. Biol. Chem.* **280**, 11731 (2005).
42. И. К. Коломийцева, Н. И. Перепелкина и Е. Е. Фесенко, *Докл. РАН* **448**, 351 (2013).
43. M. T. Nakamura, C. Yewon, L. Yue, et al., *Lipids* **39**, 1077 (2004).
44. G. Wojcicka, A. Jamroz-Wisniewska, K. Horoszewicz, et al., *Postepy Hig. Med. Dosw.* **61**, 736 (2007).
45. V. Chernomordik, M. M. Kozlov, and J. J. Zimmerberg, *Membr. Biol.* **146**, 1 (1995).
46. J. E. Vance, *J. Biol. Chem.* **265**, 7245 (1990).
47. T. Hayashi, R. Rizzuto, G. Hajnoczky, et al., *Trends Cell Biol.* **19** (2), 81 (2009).
48. D. R. Voelker, *Biochim. Biophys. Acta* **1486**, 977 (2000).
49. M. Fujimoto, T. Hayashi, and T.-P. Su, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **417**, 635 (2012).
50. G. Csordas, C. Renken, P. Varnai, et al., *J. Cell Biol.* **174**, 915 (2006).
51. H. Jespersen, J. H. Andersen, H. J. Ditzel, et al., *Biochimie* **94**, 2 (2012).
52. S. L. Lindell, S. L. Klahn, Piazza, et al., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **288**, G473 (2005).
53. J. C. Rose, L. E. Epperson, H. V. Carey, et al., *Comp. Biochem. Physiol. D* **6**, 163 (2011).

The Influence of Hibernation on the Lipids of Liver Mitochondrial Fraction in Yakutian Ground Squirrel *Spermophilus undulatus*

N.I. Perepelkina, L.A. Fialkovskaya, and I.K. Kolomiitseva

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

The amount of phospholipids in the liver mitochondrial fraction of Yakutian ground squirrel *S. undulatus* increased by 60% during a season of hibernation. The phospholipid composition in torpid animals is characterized by increasing phosphatidylethanolamine in comparison with summer animals. The amount of cholesterol as well as fatty acids, monoglycerides and diglycerides increased significantly in the mitochondrial fraction in hibernating ground squirrels compared to the summer animals. Functional changes during hibernation relate to the amount of phosphatidylserine (in torpid animals it is higher than in active individuals). The seasonal modification of lipid composition in liver mitochondria, in particular, growth in the amount of cholesterol, can play a role in the resistance of mitochondria to seasonal increasing amount of fatty acids in liver. The lipids of liver mitochondrial fraction participate in adaptation of ground squirrels to hibernation.

Key words: hibernation, liver, mitochondria, cholesterol, phospholipids