DOI: 10.17117/na.2015.07.955

Поступило в редакцию: 27.07.2015

<http://ucom.ru/doc/na.2015.07.955.pdf>

**Жигачева И.В., Бинюков В.И., Миль Е.М.,
Генерозова И.П., Расулов М.М.
Влияние германийорганического соединения
на функциональное состояние митохондрий
растительного и животного происхождения**

**Zhigacheva I.V., Binyukov V.I., Mil E.M.,
Generozova I.P., Rasulov M.M.**

**Influence of organogermanium compound on the functional
state of mitochondria of plant and animal origin**

Сопоставлены эффекты различных концентраций 1-(герматран-1-ил)-1-оксиэтиламина (герматран) на биоэнергетические характеристики митохондрий животного и растительного происхождения. Показано, что введение 10^{-5} – 10^{-11} М препарата в среду инкубации митохондрий приводило к росту эффективности окислительного фосфорилирования и увеличению максимальных скоростей окисления НАД-зависимых субстратов. В этих же концентрациях герматран снижал интенсивность ПОЛ до контрольных значений в мембранах митохондрий печени крыс и 6 дневных этиолированных проростков гороха

Ключевые слова: атомно-силовая микроскопия, митохондрии, герматран

Compared the effects of different concentrations of 1- (germatran-1-yl) -1-hydroxyethyl amine (germatrane) on mitochondrial bioenergetic characteristics of animal and plant origin. It was shown that the introduction of the drug 10^{-5} - 10^{-11} M into the incubation medium resulted in increased efficiency of oxidative phosphorylation and the maximum rates of NAD-dependent substrates oxidation by mitochondria. In these same concentrations germatrane has reduced the intensity of LPO up to the control values in the membranes of rat liver mitochondria and the 6 day etiolated pea seedlings

Key words: atomic force microscopy (AFM), mitochondria, germatrane

Жигачева Ирина Валентиновна

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля Российской академии наук
г. Москва, ул. Косыгина, 4*

Zhigacheva Irina Valentinovna

*Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher
Institute of biochemical physics, Russian academy of sciences named N.M. Emmanuelya
Moscow, Kosygina st., 4*

Бинюков Владимир Иванович

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля Российской академии наук
г. Москва, ул. Косыгина, 4*

Binyukov Vladimir Ivanovich

*Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher
Institute of biochemical physics, Russian academy of sciences named N.M. Emmanuelya
Moscow, Kosygina st., 4*

Миль Елена Михайловна

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник
Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля Российской академии наук
г. Москва, ул. Косыгина, 4

Mil Elena Mikhailovna

Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher
Institute of biochemical physics, Russian academy of sciences named N.M. Emmanuelya
Moscow, Kosygina st., 4

Генерозова Инна Павловна

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук
г. Москва, ул. Ботаническая, 35

Generozova Inna Pavlovna

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
Institute of plant physiology, Russian academy of sciences named K.A. Timiryazev
Moscow, Botanicheskaya st., 35

Расулов Максуд Мухамеджанович

Доктор медицинских наук, профессор, начальник отдела
Научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений
г. Москва, Шоссе Энтузиастов, 38

Rasulov Maksud Mukhamedzhanovich

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department
Research institute of chemistry and technology organoelement compounds
Moscow, Enthusiasts Highway, 38

Биологическая активность соединений германия была обнаружена еще в 1928 году, но интенсивно исследования их биологической активности начали проводиться лишь с середины 60 годов прошлого столетия, когда были получены первые водорастворимые органические соединения германия – сесквиоксиды германия [1]. В дальнейшем широкую известность получил бис(2-карбоксиэтил-германия) сесквиоксид $(O_{1,5}GeCH_2CH_2COOH)_n$, известный под названием Ge- 132 и нашедший широкое применение в терапии рака [2]. В это же время, а именно в 60 годы 20 столетия, в лаборатории М.Г. Воронкова впервые было обращено внимание на то, что перевод биологически активных органических кислот в их триэтаноламмониевые соли – протатраны, существенно расширяет спектр их физиологического действия. При этом сотрудниками М.Г. Воронкова были синтезированы трициклические кремниевые и германиевые эфиры триэтаноламина с общей формулой $XM(OCH_2CH_2)_3N$, где $M=Si, Ge$, и начато исследование их биологической активности. Внутриклеточные трициклические соединения кремния и германия – соответственно силатраны и герматраны, как правило, обладают почти одинаковой биологической активностью [3], что, вероятно, обусловлено сходством элементов Si и Ge по атомному радиусу электроотрицательности. Однако герматраны, обладая той же или более высокой биологической активностью, являются менее токсичными, чем их кремневые аналоги [4]. В отличие от силатранов, которые нашли широкое применение в медицине и сельском хозяйстве, герматранам, было уделено значительно меньше внимания. Тем не менее, на животных показано, что герматраны – это препараты широкого спектра действия, обладающие иммунокорректирующими и биостимулирующими свойствами. Они активируют системы макрофагов и В-клеточного звена иммунитета, а также повышают естественную резистентность организма [5, 6]. Менее изучены свойства этих соединений в качестве регуляторов роста и развития растений (PPP). Хотя показано, что обработка штаммов культуры ткани тропического растения *Polyscias filicifolia* LX-5 и *Polyscias filicifolia* наиболее изученным герматрано-

лом-1 увеличивает содержание нуклеиновых кислот и внутриклеточного белка, а также повышает активность ферментов-антиоксидантов [7]. Кроме того, этот препарат проявляет антистрессовые свойства, повышая устойчивость растений (проростков пшеницы) к температурным стрессам [8]. Исходя из этих данных, можно предположить, что герматраны обладают адаптогенными свойствами. Тем более, что по результатам полевых испытаний, подобные им по биологической активности силатраны интенсифицируют ростовые и репарационные процессы, формирование и вызревание тканей, синтез и резервирование пластических веществ при плодообразовании на различных растительных культурах [3, 9].

Известно, что стрессовые воздействия приводят к смещению антиоксидантно – прооксидантного равновесия в сторону увеличения продукции АФК и развитию ряда патологических состояний [10], что связано с повреждением компонентов клетки. При этом основным источником АФК являются митохондрии у животных [11] митохондрии и хлоропласты у растений [12]. Исходя из этого, можно было предположить, что препараты, обладающие адаптогенными свойствами в первую очередь должны влиять на генерацию АФК этими органеллами. В своей работе мы обратили внимание главным образом на митохондрии, так как эти органеллы, как у растений, так и у животных играют одну из основных ролей в ответе организма на действие стрессовых факторов. В частности, было обнаружено, что изменение температуры окружающей среды приводит к изменению липидного состава мембран митохондрий. [13]. В то же время происходит изменение количества и степени насыщенности свободных жирных кислот, что, вероятно, является признаком действия стресс фактора . [12]. Увеличение количества свободных жирных кислот (СЖК) изменяет редокс – состояние внутренней мембраны митохондрий, что приводит к экспрессии генов первичного ответа (стресс генов) [13]. На основании этого можно прийти к заключению, что митохондрии являются исключительно функционально-зависимыми органеллами.

Эти органеллы в клетках животных и дрожжей объединены в разветвленную сеть, именуемую "митохондриальным ретикулумом" [14] (Bakeevaetal., 1978). В то же время у высших растений митохондрии одиночны и имеют либо сферическую, либо цилиндрическую форму [15]. В условиях стресса происходит агрегация митохондрий и образование разветвленных сетей (аноксия) [16], либо плотных кластеров, расположенных в области хлоропластов или других областях цитозоля (тепловой шок, УФ облучение, действие сильных окислителей), что сопровождается увеличением генерации АФК. Антиоксиданты предотвращают как образование «гигантских митохондрий», так и рост генерации АФК этими органеллами [17, 18]. Стандартная процедура выделения митохондрий в растворе сахарозы приводит к полному разрушению межмитохондриальных контактов. По этой причине, митохондрии представлены в виде отдельных пузырьков до 1.20 мкм в диаметре. Морфология изолированных митохондрий, возможно, отражает их функциональное состояние [19].

Целью нашей работы было изучение адаптогенных свойств 1-(герматран-1-ил)-1-оксиэтиламина (брутто формула $N(CH_2CH_2O)_3Ge(OCH_2CH_2)NH_2$), именуемого в дальнейшем герматраном:

R -(OCH₂CH₂)NH₂

Поскольку дыхательная цепь митохондрий растений и животных имеет общий план организации и основные различия касаются CN-резистентного переноса электронов и строения NADH-дегидрогеназного участка дыхательной цепи [20], то основные механизмы функционирования герматрана исследовали как на митохондриях растительного (6 дневные этиолированные проростки гороха), так и животного происхождения (митохондрии печени крыс). Эффективность герматрана, так же как и других биологически активных веществ, проявляющих свою активность в зависимости от дозы, по-видимому, зависит от его концентрации [21]. В связи с этим, используя модельную систему «старения» митохондрий, исследовали влияние различных концентраций препарата на интенсивность флуоресценции конечных продуктов ПОЛ-шиффовых оснований. При этом изучали влияние препарата на биоэнергетические характеристики митохондрий. И, наконец, исследуя антистрессовые свойства препарата, изучали влияние дефицита воды при температуре 140С (условия соответствующие ранневесеннему периоду после малоснежной зимы) и обработки семян гороха (*Pisum sativum* L.), 1-(герматран-1-ил)-1-оксиэтиламина на интенсивность ПОЛ в мембранах митохондрий и морфологию изолированных митохондрий 6- дневных этиолированных проростков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проращивание семян. Семена гороха (*Pisum sativum* L.) , сорт Флора-2 замачивали в течение 30 мин либо в воде, либо в 10⁻⁵ М растворе герматрана. Затем они находились при температуре 220С на влажной фильтровальной бумаге. Спустя 2 суток проростки, обработанные герматраном («НУ+ОХЛ+ГМ») и половину проростков, не обработанных герматраном («НУ+ОХЛ»), переносили на сухую фильтровальную бумагу, где они находились при 140С в течение 2 суток. По прошествии этого времени все проростки переносили в помещение с температурой воздуха 220 С на влажную фильтровальную бумагу. Контрольная группа проростков в течение всего эксперимента находилась при температуре 220С. На 6-й день выделяли митохондрии.

Выделение митохондрий из эпикотилей 6-дневных проростков проводили методом дифференциального центрифугирования [22]. Среда гомогенизации эпикотилей проростков содержала: 0.4 М сахарозу, 20 мМ КН₂РO₄ (рН 8.0), 10 мМ КCl, 2 мМ дитиозэритритол, 5 мМ ЭДТА и 0.1% бычий сывороточный аль-

бумин (БСА), свободный от ЖК. Первое центрифугирование – при 25000 g в течение 5 мин. Второе – при 3000 g в течение 3 мин. Осаждение митохондрий проводили в течение 10 мин при 11000g. Осадок ресуспендировали в 2-3 мл среды, содержащей: 0,4 М сахарозу, 20 мМ KH_2PO_4 (pH 7.4), 0.1% БСА, (свободный от жирных кислот), и вновь осаждали митохондрии при 11000g в течение 10 мин.

Выделение митохондрий печени крыс линии Вистар проводили методом дифференциального центрифугирования [23]. Первое центрифугирование при 600 g в течение 10 минут, второе – при 9000 g, 10 минут. Осадок ресуспендировали в среде выделения. Соотношение ткань: среда – 1:0.25. Среда выделения: 0,25 М сахаразы, 10мМ HEPES (pH 7.4).

Регистрацию потребления кислорода митохондриями проводили полярографическим методом, используя полярограф LP-7 и кислородный электрод типа Кларка. Стандартная среда инкубации митохондрий проростков гороха содержала: 0,4 М сахарозу, 20 мМ HEPES-Tris буфер (pH 7,2), 5 мМ KH_2PO_4 , 4 мМ MgCl_2 , и 0.1% БСА. В качестве субстратов использовали 10мМ малат + 10мМ глутамат или 5 мМ сукцинат.

Среда инкубации митохондрий печени содержала: 0,25 М сахарозу, 10 мМ трис-HCl, pH 7.5 (4°C). В качестве субстратов использовали 1мМ малат + 4мМ глутамат или 5 мМ сукцинат.

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали флуоресцентным методом [24]. Липиды экстрагировали из митохондрий, содержащих 3-5 мг белка, смесью хлороформ: метанол = 2:1 (по объему). Соотношение митохондрии: смесь хлороформ-метанол = 1:10. Митохондрии гомогенизировали в течение 1 мин при температуре 10°C, затем к смеси добавляли равный объем дистиллированной воды, быстро смешивали и переносили в 12 мл центрифужные стаканы. (Промывание водой необходимо для удаления флавиновых компонентов, имеющих максимум флуоресценции в области 520 нм). Центрифугировали в течение 5 мин при 600 g. Отбирали 3 мл нижнего (хлороформного) слоя и добавляли 0.3 мл метанола. Регистрацию флуоресценции проводили в десятимиллиметровых кварцевых кюветах на спектрофлуориметре FluoroMax-HoribaYvonGmbH (Германия). В контрольную кювету добавляли 3 мл хлороформа, а затем 0.3 мл метанола. Длина волны возбуждения флуоресценции была 360 нм, испускания – 420-470 нм. Результаты выражали в условных единицах флуоресценции пересчитанных на мг белка.

Морфологию митохондрий исследовали методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). Образцы митохондрий фиксировали 2% глутаровым альдегидом в течение 1 часа с последующей промывкой водой и осаждением методом центрифугирования. Митохондрии наносили на поверхность кремниевой подложки и подсушивали на воздухе. Исследование проводили на приборе SOLVER P47 SMENA на частоте 150кГц в полу контактном режиме, использовался кантилевер NSG11 с радиусом кривизны 10нм. Некоторые геометрические параметры имиджа митохондрий определяли, используя "ImageAnalysis". Сечение производили на высоте 30 нм. Объем имиджа митохондрий исследуемых пре-

паратов митохондрий соответствовал произведению площади сечения имиджа митохондрии на среднюю высоту данного имиджа в области сечения.

В эксперименте использовали реактивы следующих фирм: метанол, хлороформ (Merck, Германия), сахароза, Трис, FCCP (карбонилцианид-р-трифторметокси-фенилгидразон), глутаровый альдегид, малат, глутамат, сукцинат, (Sigma, США), БСА (свободный от жирных кислот) (Sigma, США), NERES (MP Biomedicals, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку в условиях стресса основным источником АФК являются митохондрии, необходимо было разработать модель имитирующую стресс, т.е. найти условия, при которых будет увеличиваться продукция АФК митохондриями, а следовательно, будет активироваться ПОЛ [25]. Эту задачу мы решили, разработав модель “старения” (инкубация митохондрий печени крыс или митохондрий 6 дневных этиолированных проростков гороха в гипотонической среде, содержащей 1мМ KH_2PO_4) [26]. “Старение” митохондрий проростков гороха, и митохондрий печени крыс приводило к увеличению интенсивности флуоресценции конечных продуктов ПОЛ в 2.5 и 5 раз соответственно. Герматран в концентрациях 10-5 и 10-11М снижал интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ почти до контрольных значений (рис.1), что, возможно, свидетельствовало о наличии у препарата антистрессовых свойств.

1 – контроль; 2 – введение в среду инкубации герматрана;
3 – «старение» митохондрий

Рис.1. Спектры флуоресценции продуктов ПОЛ при введении различных концентраций герматрана в среду инкубации митохондрий печени крыс.

Ось X: Длина волны, нм; Ось Y: интенсивность флуоресценции в условных единицах / мг белка

Отметим, что наиболее эффективен был герматран в концентрации 10-5М.

Введение герматрана в этих концентрациях в среду инкубации приводило к изменению биоэнергетических характеристик митохондрий печени крыс

и митохондрий проростков гороха. Препарат увеличивал максимальные скорости окисления НАД-зависимых субстратов и сукцината в присутствии разобщителя (FCCP) (карбонилцианид-п-трифторметокси-фенилгидразона), митохондриями печени крыс на 53-54% (10-11M) и на 26-32% (10-5M) (таблица 1). Скорости окисления НАД-зависимых в присутствии АДФ возрастали в 1.6-2.3 и в 1.4 раза (таблица 1). При этом увеличивалась и эффективность окислительного фосфорилирования: величина дыхательного контроля возрастала на 33-50% (при окислении НАД-зависимых субстратов) и на 16-20% (при окислении сукцината).

Таблица 1. Влияние различных концентраций герматрана на кинетику потребления кислорода митохондриями печени крыс (нг. моль O₂/мг белка × мин)
(Данные 10 экспериментов)

Субстрат	ГерматранМ	V0	V3	V4	FCCP	ДК
Г+М	0	6.18±1.21	18.3±2.08	7.50±0.38	25.48±4.34	2.44±0.02
Г+М	10-5	8.72±0.84	43.0±2.50	11.62±1.30	38.95±3.31	3.70±0.03
Г+М	10-9	13.3±2.24	44.0±3.08	16.92±1.50	64.24±4.82	2.60±0.03
Г+М	10-11	8.35±0.15	29.20±3.60	8.98±0.58	39.22±4.61	3.25±0.03
Г+М	10-18	9.89±2.20	36.36±2.28	11.68±2.46	46.81±1.10	2.77±10.02
Сукцинат	0	14.88±1.55	36.48±2.10	14.40±1.84	62.0±3.21	2.53±0.03
Сукцинат	10-5	17.95±2.00	51.40±1.83	16.85±2.00	78.32±2.00	3.05±0.02
Сукцинат	10-9	15.10±1.65	48.73±2.54	18.18±3.50	74.00±5.30	2.68±0.04
Сукцинат	10-11	18.10±2.86	50.58±3.22	17.15±1.60	82.03±5.54	2.95±0.02

Среда инкубации: содержала 0,2 5M сахарозы, 10 мМтрис-HCl, 2 мМ KH₂PO₄, 5 мМMgSO₄, 10 мМ KCl, pH 7,5. Дополнительные добавки: 200 мкMADP, 10-6M FCCP (карбонилцианид-п-трифторметоксифенилгидразон), 4 мМглутамат, 1 мМмалат или 5 мМсукцинат. Условные обозначения: Г+М – 4 мМглутамат, 1 мМмалат; V₀ – скорости окисления субстратов; V₃ – скорости окисления субстратов в присутствии АДФ; V₄ – скорости окисления в состоянии покоя (скорости окисления субстрата при исчерпании АДФ)

Препарат в тех же концентрациях стимулировал рост максимальных скоростей окисления глутамата и малата митохондриями проростков гороха. Однако максимальные скорости окисления этих субстратов в присутствии разобщителя возрастали на несколько меньшую величину 27.7% (10-5M) – 42.7% (10-11M) и на 17-47% – в присутствии АДФ (таблица 2).

Величина дыхательного контроля возрастала с 2.30±0.01 до 2.90±0.02 и 3.25±0.05. Необходимо подчеркнуть, что препарат во всех исследуемых концентрациях не влиял ни на максимальные скорости окисления, ни на величину дыхательного контроля при окислении сукцината митохондриями проростков, что, вероятно, свидетельствует об адаптивном характере действия герматрана. Поскольку прорастающие семена характеризуются довольно низкими скоростями окисления НАД-зависимых субстратов, то стимулируя рост активности НАД-зависимых дегидрогеназ, герматран, по-видимому, способствует активации энергетических процессов в клетке и повышает устойчивость проростков к действию стрессовых факторов [27].

Таблица 2. Влияние различных концентраций герматрана на кинетику потребления кислорода митохондриями проростков гороха (нг. атом O₂/мг белка × мин) (Данные 10 экспериментов)

Субстрат	Герматран М	V0	V3	V4	FCCP	ДК
Г+М	0	11.2±2.0	58.1±5.0	25.3±2.0	62.0±4.6	2.30±0.01
Г+М	10-5	16.24±2.6	85.5±3.0	26.0±1.0	79.2±5.2	3.28±0.05
Г+М	10-9	20.0±3.1	82.2±4.3	31.0±1.2	128.0±2.4	2.65±0.02
Г+М	10-11	15.1±2.8	68.4±3.0	23.6±1.3	88.5±4.0	2.90±0.02
Г+М	10-18	17.9±2.3	80.2±3.0	30.7±1.0	94.8±4.2	2.61±0.02
Сукцинат	0	32.4± 3.8	105.0± 2.5	42.3±3.1	120.0± 7.2	2.48± 0.10
Сукцинат	10-5	335±2.4	108.4±2.4	46.1±2.6	129.0±4.0	2.35±0.06
Сукцинат	10-9	38.7 ± 4.1	102.3± 3.4	42.3±2.5	123.0± 4.0	2.42±0.03
Сукцинат	10-11	35.2±3.2	110.0±4.6	44.0±3.2	119.4±3.7	2.50±0.03
Сукцинат	10-18	32.8±1.4	106.5±2.8	43.3±3.7	118.4±5.4	2.46±0.01

Среда инкубации: 0,4 М сахара, 20 мМ HEPES-Tris буфер (pH 7,2), 5 мМ KH₂PO₄, 4 мМ MgCl₂, 0,1% БСА. Дополнительные добавки: 5 мМмалат, 10 мМглутамат или 5 мМсукцинат, 125 мкМ АДФ, 0,5 мкМ FCCP (карбонилцианид-п-трифторметоксифенилгидразон).

Проверку протекторных свойств препарата проводили, используя митохондрии, выделенные из 6 дневных этиолированных проростков гороха, которые перенесли дефицит воды при температуре 140С. Выбор такой модели стрессового воздействия обусловлен тем, что в природе растительный организм подвергается действию не одного, а сразу нескольких факторов окружающей среды. При этом довольно часто возникают ситуации, когда при недостаточной доступности воды (после бесснежной зимы) наблюдается пусть даже небольшое понижение температуры, обычное для весеннего времени года. Поскольку герматран в концентрации 10-5М оказывал существенное влияние на биоэнергетические характеристики и эффективно снижал интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий печени крыс и проростков гороха, то в исследованиях его антистрессовых свойств использовали его именно в этой концентрации.

Такое воздействие приводило к изменению морфологии митохондрий. АСМ имиджи митохондрий проростков гороха, подвергшихся двухдневному воздействию дефицита воды при температуре 140С, существенно отличались от контрольных образцов. Появлялось большое количество набухших митохондрий (рис. 2 в). Статистический анализ объема предварительно фиксированных, глутаровым альдегидом митохондрий свидетельствует о появлении в этой группе проростков одиночных, большего объема митохондрий ($V_{ср.} = 115.1(\text{мкм})^2 \times \text{нм}$) по сравнению с контрольной группой ($V_{ср.} = 80.7(\text{мкм})^2 \times \text{нм}$).

Сопоставляя литературные данные с данными, полученными в нашем эксперименте, можно предположить, что в условиях недостаточного увлажнения при температуре 140С в клетках проростков гороха происходило увеличение генерации АФК с последующим набуханием митохондрий [18].

Рис. 2. АСМ имиджи митохондрий проростков гороха в контроле (а); НУ+ОХЛ +ГМ (б); НУ+ОХЛ (в). На рисунке представлены двумерные изображения митохондрий (х (мкм), у (мкм), z (нм))

Действительно, в этих условиях в мембранах митохондрий проростков наблюдалась активация ПОЛ. При этом интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ возрастала в 2.5-3 раза (рис. 3).

1 - контроль; 2 – проростки гороха, находящиеся в условиях недостаточного увлажнения при температуре 140 С, обработанные 10-5 М раствором герматрана; 3- проростки гороха, находящиеся в условиях недостаточного увлажнения при температуре 140 С

Рис. 3. Спектры флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий проростков гороха в условиях недостаточного увлажнения при температуре 140 С и обработки семян гороха 10-5М герматрана. Ось X: Длина волны, нм; Ось Y: интенсивность флуоресценции в условных единицах / мг белка

Замачивание семян в 10-5М растворе герматрана приводила к снижению содержания продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий: интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ снижалась почти до контрольного уровня (рис.3). Такая обработка предотвращала изменения морфологии митохондрий. Размеры митохондрий приближались к контрольным ($V_{ср.} = 59.4 \text{ (мкм)}^2 \times \text{нм}$), что согласуется с ранее полученными данными для препарата «мелафен» [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно предположить, что защитный эффект препарата обусловлен его антиоксидантными свойствами. Снижение интенсивности процессов свободно радикального окисления находит отражение в низкой интенсивности ПОЛ. Предотвращая активацию ПОЛ, герматран, по-видимому, способствует сохранению функционального состояния митохондрий, что находит отражение в сохранении морфологических характеристик митохондрий. Протекторные свойства препарата, по-видимому, обусловлены его способностью активировать НАД – зависимые дегидрогеназы. Следует отметить, что комплекс I электрон – транспортной цепи митохондрий является главным пунктом поступления восстановителей, генерированных в матриксе митохондрий. Поскольку транслокация протона комплексом I дыхательной цепи митохондрий сопряжена с окислительным фосфорилированием, генерирующим АТФ, повышение актив-

ности НАД-зависимых дегидрогеназ активирует энергетические процессы в клетке, в результате чего повышается устойчивость растительного организма к изменяющимся условиям внешней среды, что имеет особое значение для прорастающих семян.

Список литературы:

1. KaarsSijpesteijn A., RijkensT., Kerk G.J.M. Antimicrobial Activity of Organigermanium Derivatives // *Nature*. 1964 V. 201. Pp. 736-737.
2. Менчиков Л.Г., Игнатенко М.А. Биологическая активность органических соединений германия // *Хим-фарм. Ж.* 2012. Т.46(11) С. 3-6.
3. Воронков М.Г., Барышок В.П. Силатраны в медицине и сельском хозяйстве. Новосибирск: СО РАН, 2005. 258 с.
4. Воронков М.Г., Барышок В.П. Разработка метода синтеза биологически активных германийорганических соединений на основе хлорпроизводных этилена // *Вестник РАН*. 2010. Т. 80 (11). С. 985-992.
5. Лукевиц Э.Я., Гар Т.К., Игнатович Л.М., Миронов В.Ф. // Биологическая активность соединений германия. Рига: Зинатне, 1990. 191 с.
6. Яблонська О.В. Герматранол як імуностимулятор при вирощуванні телят // *Вісник Державного агроєкологічного університету. Житомир: ДАУ*, 2002. № 1. С. 56-62.
7. Спасенков А.И. Белоксинтетическая способность и стабильность двух штаммов культуры ткани *Polysciasfilicifolia* при стрессе. Автореф. дисс. канд.биол.наук. СПб, 2006. 24 с.
8. Шигарова А.М., Боровский Г.Б., Тхью ЗангЛеНьят, Бартышок В.П. Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде. Материалы Всероссийской научной конференции 10-13 июня 2013. Иркутск 2013. С. 294-297.
9. Воронков М.Г., Левит Т.Х., Кириллов А.Ф., Барышок В.П., Козьмик Р.А. и др. Действие герматранола на морозостойкость винограда // *Доклады АН СССР*. 1988. Т.299 (2). С. 509-512.
10. Tailor N.L., Day D.A., Millar A.H. Tagrets of stress-induced oxidative damage in plant mitochondria and their impact on cell carbon/nitrogen metabolism// *J. Exp. Botany*. 2003. V. 55 (394). Pp. 1-10.
11. Plotnikov E., Chupyrkina A., Vasileva A., Kazachenko A., Zorov D. The role of reactive oxygen and nitrogen species in the pathogenesis of acute renal failure // *BBA*. 2008. 1777. Pp. 58-59.
12. Rodríguez M., E. Canales, O. Borrás-Hidalgo. Molecular aspects of abiotic stress in plants // *Biotechnología Aplicada* 2005. V.22 (1). Pp. 1-10.
13. Войников В.К. Ядерно-митохондриальные взаимоотношения при редокс-регуляции экспрессии генов растений при стрессах. Растение и стресс. Всероссийский симпозиум. Тезисы докладов 9-12 ноября 2010 г. М.: 2010, С. 90-91.
14. Bakeeva L.E., ChentsovYu.S., Skulachev V.P Mitochondrial framework (reticulum mitochondriale) in rat diaphragm muscle // *Biochim.et biophys. acta*. 1978. V. 501 (3). Pp. 349-369.
15. Logan D.C., Leaver C.J. Mitochondria-targeted GFP highlights the heterogeneity of mitochondrial shape, size and movement within living plant cells // *J. Exp. Bot*. 2000. V. 51. Pp. 865-871.
16. Vartapetian B.B., Andreeva I.N., Kozlova G.I., Agapova L.P. Mitochondrial ultrastructure in roots of mesophyte and hydrophyte at anoxia and after glucose feeding // *Protoplasma*. 1977. V. 93. Pp. 243-256.
17. Scott I., Logan D.C. Mitochondrial morphology transition is an early indicator of subsequent cell death in *Arabidopsis* // *New Phytologist*. 2008. V. 177. Pp. 90-101.
18. Zhang L., Yinshu Li, Da-Xing, CaijiGao. Characterization of mitochondrial dynamics and subcellular localization of ROS reveal that HsfA2 alleviates oxidative damage caused by heat stress in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot*. 2009. V. 60 (7). Pp.2073-2091.
19. Claypoo S.M., McCaffery J.M., and Koehler, C.M. Mitochondrial mislocalization and altered assembly of a cluster of Barth syndrome mutant tafazzins // *J. Cell Biol*. 2006.V. 174(3). Pp. 379-390.
20. Sweetlove L.J., Heazlwood J.L, Hearld V., Holtzapffel R., Day D.A., Leaver C.J., Millar A.H. The impact of oxidative stress on *Arabidopsis* mitochondria // *The Plant J*. 2002. V. 32. Pp. 891-904.
21. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Мальцева Е.Л. Действие сверхнизких доз биологически активного вещества и низко интенсивных физических факторов. М.: Ижевск, 2007. С. 390-423.
22. Попов В.Н. Э.К. Руге, А.А. Старков. Влияние ингибиторов электронного транспорта на образование активных форм кислорода при окислении сукцината митохондриями гороха // *Биохимия* 2003. Т. 68. (7). С. 910-916.

23. Mokhova E.N., Skulachev V.P., Zhigacheva I.V. Activation of external pathway of NADH oxidation in liver mitochondria of cold-adapted rats // *BBA*. 1977. V. 501. Pp. 415-423.
24. Fletcher B.I., Dillard C.D., Tappel A.L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues // *Anal. Biochem*, 1973. V. 52. Pp. 1-9.
25. Pryor W.A., Porter N.A. Suggested mechanism for the production of 4-hydroxy-2-nonenal from autooxidation of polysaturated fatty acids // *Free Radical Biology and Medicine*. 1990. V.8. Pp. 541-543.
26. Zhigacheva I.V., Burlakova E.B. Adaptogens decrease the generation of reactive oxygen species by mitochondria. *Research progress in chemical physics and biochemical physics. Pure and applied science*. New-York: Nova Science Publishers, 2014. Chapter 8. Pp. 193-204.
27. Генерозова И.П., Шугаев А.Г. Дыхательный метаболизм митохондрий проростков гороха разного возраста в условиях недостатка влаги и реоводнения // *Физиология растений*. 2012. Т. 59. С. 262-273.
28. Zhigacheva I., Mil' E., Binukov V., Generozova I., Shugaev A. Fatkullina L. Combined effect of insufficient watering, moderate cooling, and organophosphorous plant growth regulator on the morphology and functional properties of pea seedling mitochondria // *Annual Research & Review in Biology*. 2014 V. 4(19). Pp. 3007-3025

© 2015, Жигачева И.В., Бинюков В.И., Миль Е.М.,
Генерозова И.П., Расулов М.М.

*Влияние германийорганического соединения на
функциональное состояние митохондрий
растительного и животного происхождения*

© 2015, Zhigacheva I.V., Binyukov V.I., Mil E.M.,
Generozova I.P., Rasulov M.M.

*Influence of organogermanium compound on the
functional state of mitochondria of plant and animal
origin*