

УДК 577.175.612 (575.2) (04)

МЕМБРАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ К ВЫСОТНОЙ ГИПОКСИИ

А.А. Вишнеvский – канд. биол. наук

The membranes mechanism of adaptation to high altitude hypoxia (6000m; 3 days) are studied. The activation of lipid peroxidation in such conditions is shown. The increased of nonsaturation of fatty acids, sphingomyelin and lysophospholipids are also demonstrated. The role of this processes as a ways of adaptive modification of membranes in extrimе conditions are estimated.

При гипоксии мембраны обогащаются устойчивыми к окислению фракциями фосфолипидов – фосфатидилхолином и сфингомиелином, а содержание легкоокисляемых фосфолипидов – фосфатидилсерина и фосфатидилинозитола – падает [1, 2]. Этот процесс можно объяснить как приспособительную модификацию, поскольку признано, что гипоксия ведет к накоплению восстановленных форм переносчиков электронов и к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3, 4].

Процессы ПОЛ вместе с антиоксидантными системами являются неперенным компонентом приспособительной перестройки мембранных и молекулярных структур клетки, обладающие диалектически противоположными признаками: способностью глубокого повреждения метаболизма, биоэнергетики и структур, при их чрезмерной активации [5]. В то же время необходимо подчеркнуть физиологическую значимость перекисного окисления липидов. Во-первых, ферментативное ПОЛ и фосфолипазы – универсальный механизм разборки старых, не соответствующих новым условиям среды мембран [5]. Во-вторых, ПОЛ – необходимое звено в синтезе простагландинов и лейкотриенов, процессы ПОЛ необходимы для фагоцитоза, пероксидазных, гидроксилазных, карбоксилазных и других метаболических процессов [4].

Модуляция мембранных структур и изменение интенсивности свободно-радикальных процессов после воздействия какого-либо фактора внешней среды начинается очень быстро – в течение первых часов [1, 3]. В связи с этим интересны сдвиги в мембранных системах и в ПОЛ в течение относительно короткого промежутка времени – до трех суток после воздействия высотной гипоксии.

Кроме того, чтобы расширить представления о сути воздействия высотной гипоксии на мембраны, а также получить дополнительную информацию для интерпретации данных, испытуемых животных тестировали по физической работоспособности, измеряли ректальную температуру.

Методика. В экспериментах использованы крысы-самцы линии Вистар. Режим высотной гипоксии (6000 м над. ур. м.; 3-е суток) создавали в барокамере. Качественный и количественный состав мембранных фосфолипидов определяли методом одномерной восходящей хроматографии в тонком слое силикагеля, с использованием системы растворителей хлороформ: метанол: уксусная кислота: вода (60: 50: 1: 4 по объему) [6]. Жирнокислотную композицию фосфолипидов определяли на газожидкостном хроматографе ЛХМ-80. Идентификацию фосфолипидных фракций и жирных кислот выполняли с помощью стан-

дартных свидетелей (“Institute for research, production and applications”, Чехия). Продукты ПОЛ определяли по общепринятым методикам. Физическую работоспособность крыс (удержание груза) проводили по методу О.Н. Елизаровой [7]. Учитывался максимальный вес груза, который может удержать крыса. Данные для конкретных экспериментальных точек в каждом независимом определении проводили в шести-, восьмикратной повторности. Достоверность отличий оценивали по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Высотная (барокамерная) гипоксия вызывала изменение температуры тела и физической работоспособности. Падение ректальной температуры в первые сутки, очевидно, связано с тем, что крысы по характеру метаболизма – конформеры и приспособляются в первую фазу адаптации к гипоксии путем снижения обмена, что отражается на термогенезе [1]. Однако к третьим суткам экспозиции они переходят на “теплокровную стратегию” приспособления. Температура тела поднимается выше исходной, что свидетельствует о силе гипоксического стресса и синдроме гипоксической лихорадки.

Снижение физической работоспособности в первые трое суток экспозиции, возможно, было связано со значительным гипоксическим стрессом при данном уровне воздействия (6000 м).

Очевидно, что изменение физиологических показателей будет сопровождаться струк-

турными сдвигами в мембранах и изменением активности клеточных сигнальных систем. Действительно, уже через час после начала воздействия высотной гипоксии в полушариях мозга обнаружено увеличение содержания сфингомиелина и уменьшение фосфатидилхолина. К третьим суткам процентное содержание сфингомиелина еще более возросло. Содержание фосфатидилхолина несколько повысилось, но, в целом, оставалось ниже контрольных значений. Уровень фосфатидилэтанолamina прогрессивно снижался (табл. 1). Подобное изменение липидной композиции влияет не только на проницаемость мембран, но и на свойства ферментов.

Сфингомиелин известен как активатор протеинкиназ, он участвует в регуляции процессов транскрипции, влияет на экспрессию ДНК. В то же время этот фосфолипид подавляет активность АТР-деаминаз, а фосфатидилхолин ее повышает [8].

Очень важная особенность сфингомиелина, отмеченная еще в 1970 г. Д. Бернардом [9], заключается в том, что этот фосфолипид, в отличие от других, содержит преимущественно ненасыщенные жирные кислоты. Вероятно, убыль содержания фосфатидилхолина связана с большей насыщенностью его жирных кислот, т.е. идет его адаптивная элиминация и замена на фосфолипиды, соответствующие гипоксическим условиям среды.

Таблица 1

Изменение содержания фосфолипидов в полушариях мозга крыс при экспозиции в барокамере (6000 м над ур. м.; 3 суток; + 30 °С), % от контрольных значений (25 °С; 760 м над ур. м.)

Фосфолипиды	Время экспозиции, ч			
	1	3	12	3 сут.
PC	90,8 ± 7,5	90,0 ± 7,5	87,0 ± 10,2	95,5 ± 7,7
PE	96,5 ± 11,3	80,2 ± 8,8	91,5 ± 8,9	88,2 ± 10,3
SM	116,7 ± 8,8	109,2 ± 9,2	111,1 ± 6,5	119,4 ± 7,7 *
PI	78,4 ± 6,5 *	87,6 ± 7,5	87,0 ± 8,0	86,4 ± 10,0
lyso-PL	108,1 ± 9,0	116,2 ± 8,4	101,0 ± 12,7	136,4 ± 9,5 *
poly-PI	86,7 ± 9,6	84,2 ± 6,8 *	95,5 ± 7,7	96,3 ± 7,8

PC – фосфатидилхолин, PE – фосфатидилэтанолamin, SM – сфингомиелин, PI – фосфатидилинозитол, poly – PI – полифосфоинозитиды (PIP и PIP₂), lyso – PL – лизофосфолипиды;

* p < 0,05; n -3 (для PC, PE и lyso – PL); n -6 (для PI и poly – PL).

Таблица 2

Изменение интенсивности ПОЛ в полушариях мозга крыс при адаптации к барокамерной гипоксии (6000 м; 3 суток; + 30° С), % от контроля

Продукты ПОЛ	Время экспозиции в барокамере, ч			
	1	3	12	3 сут.
Диеновые конъюгаты	147,5 ± 12,0 *	137,5 ± 10,3 *	190,9 ± 15,2 *	130,5 ± 10,8
Гидроперекиси	158,3 ± 11,8 *	237,5 ± 16,1 *	83,3 ± 7,7	216,7 ± 14,1 *

* Статистически достоверное отличие от контроля.

Кроме отмеченной выше фосфолипидной рекомпозиции в мембранах, живые системы имеют еще один механизм “липидной стратегии” приспособительного процесса, а именно изменение жирнокислотного состава в самих фосфолипидах, которые наступают довольно быстро.

Уже через час после воздействия барокамерной гипоксии (6000 м) выявлены перестройки жирнокислотной композиции, имеющие тенденцию к увеличению доли ненасыщенных жирных кислот (сфингомиелина и фосфатидилсерина). В этой связи можно констатировать, что адаптация к высотной гипоксии и пониженным температурам, при всем глубоком различии действия того или другого факторов, имеет некоторые общие черты “липидной стратегии”, заключающиеся в увеличении жирнокислотности мембран за счет повышения доли ненасыщенных жирных кислот.

Выявленные различия в ненасыщенности жирных кислот для различных классов фосфолипидов, вероятно, связаны с высокой степенью дифференциации липидных локусов в биологических мембранах, направленной на избирательную модуляцию тех или иных ферментных комплексов при адаптации.

Высокая лабильность изменений фосфолипидного и жирнокислотного состава мембран на воздействие острой высотной гипоксии (6000 м; 24 ч) продемонстрирована, кроме того, при определении уровней лизофосфолипидов в полушариях мозга (табл. 1).

Точная причина увеличения содержания лизофосфолипидов в мембранах, имеющего место и при гипоксии, и при воздействии низких температур, не известна. Однако анализ

многочисленных литературных данных и собственные результаты наводят на мысль о решающей роли свободно-радикального окисления ненасыщенных жирных кислот в липидах мембран (табл. 2). При гипоксии, несмотря на снижение напряжения кислорода, имеет место усиление перекисного окисления липидов (ПОЛ), обусловленное в основном избытком доноров электронов – восстановленных переносчиков [10]. Как мы отмечали выше, этот процесс усиленного образования и накопления перекисей приводит к нарушениям структуры биологических мембран и работы мембраносвязанных ферментов.

Данный механизм, как предполагают, является универсальным и может быть применим для характеристики молекулярных механизмов, лежащих в основе устойчивости адаптационных возможностей организма [3, 4].

Приведенные логические построения, основанные на экспериментальных фактах, позволяют выработать следующую схему развития событий: высотная гипоксия инициирует активацию свободнорадикальных процессов. Усиление ПОЛ, в свою очередь, вызывает падение мембранного потенциала и разобщение окислительного фосфорилирования, выход ионов кальция и калия из внутриклеточных компартментов. Эти процессы связывают с активацией фосфолипазы A₂ и накоплением свободных жирных кислот и лизофосфолипидов [11].

Таким образом, активация свободно-радикального перекисного окисления липидов является ключевым патофизиологическим механизмом повреждения мембран мозга при стрессе. Это и не удивительно, поскольку мембраны мозга содержат сильно ненасыщен-

ные липиды, постоянно контактирующие с кислородом [1]. Очевидно, нужно учитывать при этом, что ПОЛ и гидролиз фосфолипидов фосфолипазами представляют собой два наиболее значительных процесса модификации липидного бислоя биологических мембран.

Литература

1. Яковлев В.М., Терновой В.А., Михайлов И.В. Мембраны и адаптация в высокогорье. – Бишкек: Илим, 1994. – 200 с.
2. Kaneko M., Panagia V., Paolillo G. Inhibition of cardial phosphatidylethanolamine N-metilation by oxigen free radicals // В.В.А. – 1990. – №1. – P. 33–38.
3. Болдырев А.А. Введение в мембранологию. – М.: МГУ, 1990. – 208 с.
4. Halliwell B., Gutteridge J.M. Free radicals in biology and medicine. See. Ed. Clarendon Press. – Oxford, 1989. – 543 p.
5. Вишнеvский А.А., Яковлев В.М., Хабибуллова З.И. Мембранные и внутриклеточные компоненты адаптации к физическим факторам гор // Физиология человека. – 2002. – Т. 28. – №6. – С. 40–44.
6. Финулей Дж., Эванз. У. Биологические мембраны. Методы. – М.: Мир, 1990.
7. Елизарова О.Н., Жидкова Л.В. Пособие по токсикологии для лаборантов. – М.: Медицина, 1974.
8. Wozniak M., Purzycka J., Kossowska E. Diversity of the effect of phosphatidylcholine and sphingomyeline // Asta. Biochimica Polonika, 1987. – V. 34. – №3. – P. 285–290.
9. Bernhard D., Gruffer W. Anion permeability of mammalian phospholipid patterns // Biochim et biophys. – Asta, 1970. – V. 11. – №2. – P. 369–372.
10. Горошинская И.А., Мошлыницкая Л.В. Состояние мембранных ферментов клетки при гипоксии // Биохимия. – 1993. – Т. 58. – Вып. 1. – С. 62–69.
11. Гогадзе В.Г., Бруставецкий Н.Н. Участие фосфолипазы А2 в индуцируемом разобщении митохондрий печени крыс // Биохимия. – 1990. – Т. 55. – №12. – С. 2195–2199.