

УДК 576.34:612-08.017.2 (23.03) (575.2) (04)

ЛИЗОФОСФОЛИПИДЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИНДИКАТОРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ МЕМБРАН

А.А. Вишневский – канд. биол. наук

Membrane mechanisms adapting to geophysical factors of highlands (3200 m above sea level; +10°C; 90 days) are considered. The role of membrane lyso-phospholipids (lyso-PL) is estimated as a role of promising indicators of membranes destruction. The experiments are presented for correction of lyso-PL level in cell membranes with the help of physiologically active materials.

Теория адаптации к экстремальным воздействиям внешней среды остается на сегодняшний день преимущественно описательной наукой. Это объясняется недоверием экспериментаторов к чисто логическим построениям. В то же время понятно, что без систематизации накопленного экспериментального материала невозможен переход от феноменологии к выявлению наиболее общих законов в теории адаптации.

При этом неизбежен выход за рамки эксперимента. На этой стадии исследовательского процесса происходит раскрытие глубинной сути рассматриваемого круга природных явлений, и основными критериями предлагаемого построения должны быть его внутренняя логическая целостность, принципы целесообразности и «естественной рациональности».

Исследования мембранных и мессенджерных механизмов адаптации к экстремальным внешним воздействиям подтвердили верность сложившихся к настоящему времени представлений о важной, если не решающей, роли мембранных липидов и внутриклеточных сигнальных систем в формировании длительного эффекторного и адаптационного ответов клеток и субклеточных структур [1, 2]. Это положение основывается на том, что мембраны и, в частности, компоненты их метаболической деградации определяют протекание физиологи-

ческих и биохимических процессов и, тем самым, являются исходным звеном в сложной цепи приспособительных модификаций на всех уровнях: субклеточном, клеточном, тканевом и системном [2].

Адаптивная модификация мембран.

Судя по нашим данным, длительное сочетанное воздействие высотной гипоксии и пониженной температуры (3200 м; +10°C; 60 дней), значительно «подрушивает» мембраны, в которых резко возрастает содержание лизофосфолипидов (lyso-PL), увеличивается гидрофильность и кластеризация бислоя [2]. Какова причина увеличения lyso-PL в мембранах, имеющего место при указанных экстремальных воздействиях? Точно неизвестно. Однако анализ литературных данных и собственные результаты наводят на мысль о решающей роли активации свободнорадикальных процессов [3]. Эти процессы, в свою очередь, приводят к инициации мембранных фосфолипаз A₁ и A₂ [4]. В результате содержание lyso-PL в бислое повышается (см. табл. 1).

Lyso-PL – чрезвычайно токсичные продукты активности фосфолипаз A₁ и A₂ [5, 6]. Они могут трансформировать липидный бислой, разрыхляя его мицеллярные структуры. Детергентные свойства lyso-PL проявляются и в том, что их присутствие делает мембраны утолщенными, гидратированными, поэтому

Изменение фосфолипидного спектра в полушариях мозга крыс при адаптации к комплексу факторов высокогорья (3200 м; +10 °С; 90 дней)

Срок адаптации, день	Класс фосфолипидов				
	PC	PE	SM	PS	lyso-PL
3	96,2 ± 10,3	93,9 ± 7,5	-	-	116,6 ± 8,2
7	103,6 ± 8,4	99,2 ± 6,3	148,5 ± 12,5*	138,9 ± 12,1*	119,9 ± 10,3
14	96,9 ± 7,8	95,9 ± 9,3	216,6 ± 14,8*	96,5 ± 8,9	112,5 ± 8,3
30	62,0 ± 5,8	97,2 ± 7,9	181,8 ± 11,4*	60,4 ± 9,1*	187,5 ± 16,9*
60	56,4 ± 7,0*	100 ± 7,1	185,7 ± 14,8*	92,3 ± 7,9	-
90	70,5 ± 8,8	94,3 ± 8,9	107,6 ± 7,5	90,9 ± 7,2	125,5 ± 10,8

Примечание: содержание фосфолипидов приведено в процентах от контрольных значений (760 м; +30°С); PC – фосфатидилхолин; PE – фосфатидилэтаноламин; SM – сфингомиелин; PS фосфатидилсерин; lyso-PL – лизофосфолипиды; * $p < 0,05$; $n = 6$.

проницаемость мембран для различных веществ резко возрастает [6]. Кроме того, это приводит к набуханию мембран митохондрий, из-за чего нарушается их функциональная активность, снижается синтез макроэргических соединений [7, 8].

Отрицательный эффект от накопления lyso-PL признается большинством исследователей [5, 6, 8]. В то же время необходимо иметь в виду, что «дефекты», вызванные присутствием lyso-PL, индуцируют активацию мембранных репарационных систем [1]. Детергентный потенциал lyso-PL способен обеспечить ускоренную разборку старых, либо неадекватных изменившимся условиям среды функциональных участков мембраны. Эти события создают необходимые условия для фосфолипидной и жирнокислотной рекомпозиции, адекватной новым внешним условиям [1, 2].

Таким образом, при определенных условиях повреждающий потенциал свободно радикальных процессов и lyso-PL оборачивается своей диалектической противоположностью – физиологическим эффектом, выражающимся в приспособительной структурной модификации мембран, в соответствии с характером возмущающего действия среды.

Общая стратегия мембранной адаптации в условиях сочетанного действия высотной гипоксии (3200 м) и пониженной температуры (+10°С) заключается в повышении общей ненасыщенности жирнокислотного состава мем-

бранных фосфолипидов [2, 12]. Наиболее интенсивное обогащение ненасыщенными жирными кислотами наблюдается в таких классах фосфолипидов, как сфингомиелин и фосфатидилсерин. При этом, однако, отдельные виды фосфолипидов (например фосфатидилэтаноламин) становятся более насыщенными, обеспечивая стабилизацию «подрешенных» свободными радикальными процессами и lyso-PL мембран.

Картина адаптационных и дизадаптационных изменений в условиях высокогорья весьма сложна, поскольку включает в себя не только обеспечение достаточного уровня «ловушек» свободных радикалов за счет увеличения ненасыщенности жирных кислот, но и сохранение адекватной микровязкости и гидрофобности, для чего в отдельных классах фосфолипидов увеличивается доля насыщенных жирных кислот.

Естественно, предполагать, что указанные тенденции и черты мембранной модификации не будут идентичны тем сдвигам, которые наблюдаются при изолированном воздействии высотной гипоксии и пониженной температуре.

В высокогорье, где гипоксия и низкие температуры действуют в сложном комплексе, адаптационные изменения в мембранах носят признаки отрицательной перекрестной адаптации к гипоксии и холоду. Зафиксированные в этих условиях феноменологические данные имеют довольно сложный характер и не всегда

могут поддаваться четкой физиологической интерпретации. Вероятно, характер, сила и длительность того или иного возмущающего воздействия являются определяющими для включения соответствующей мембранной стратегии адаптации. Однако ясно, что активация свободнорадикальных процессов и накопление lyso-PL, как неперенные атрибуты экстремальных воздействий, могут вызвать, как отмечено выше, противоположные эффекты. Во-первых, эти явления способны вызвать глубокие повреждения метаболизма, биоэнергетики и структур при их чрезмерном усилении. Во-вторых, это универсальный механизм разборки и устранения старых, не соответствующих новым условиям мембран [3]. Поэтому степень перекисной деградации липидов и уровень lyso-PL, время появления, факторы и условия, обеспечивающие их нейтрализацию, являются универсальными, ранними, и часто, наиболее надежными индикаторами не только силы воздействия возмущающего фактора среды, но и адаптационных возможностей мембран, а значит, и всего организма.

Коррекция уровня лизофосфолипидов в мембране. В качестве средства коррекции уровня lyso-PL в эритроцитарных мембранах мы применили два физиологически активных вещества (ФАВ) – пропранолол и унитиол. Применение второго ФАВ – унитиола – обусловлено его свойствами антиоксиданта [10]. Наша рабочая гипотеза заключалась в том, что при экстремальных воздействиях среды имеет место активация свободнорадикальных процессов [11], которые в свою очередь приводят к индукции мембранных фосфолипаз A_1 и A_2 [4]. При этом образуются фосфолипиды с одной жирной кислотой, т.е. lyso-PL. Отрицательный эффект от накопления lyso-PL, как отмечено выше, признается многими исследователями [4, 5, 6, 8].

Каким же образом можно нивелировать эти нежелательные процессы? Первый путь – ингибирование фосфолипаз. Понятно, что при этом угнетаются все другие физиологические процессы на мембране, поскольку активность фосфолипаз является универсальным механизмом и говорить о какой-либо избирательности влияния на продукцию физиологически

необходимого уровня лизофосфолипидов не приходится.

Нам представляется более перспективной фармакологическая коррекция, направленная на нейтрализацию самого первичного сигнала, т.е. активацию свободнорадикальных процессов, вызванных экстремальными внешними воздействиями (высотная гипоксия, пониженная температура, радиация и т.д.).

Для того, чтобы вызвать активацию свободнорадикальных процессов и проверить эффективность унитиола и пропранолола как мембранных протекторов, мы избрали модель с экспозицией животных в условиях повышенного радиационного фона. В этих условиях имеет место активация перекисного окисления липидов [11].

Крысы находились в течение 30 дней в условиях радиационного фона в 100 мкР/ч (низкогорье). Предварительно одной группе крыс вводили внутримышечно пропранолол в дозе 5 мг/г массы в сутки, а другой – унитиол в дозе 10 мг/г в течение трех суток. Третья группа находилась в условиях повышенного радиационного фона, но не подвергалась инъекциям. Фосфолипидный спектр определяли с использованием тонкослойной хроматографии [9]. Продукты ПОЛ – по общепринятым методам [3].

Исследованием состояния свободнорадикальных процессов у крыс, находившихся в условиях низкогорья при повышенном радиационном фоне, выявлена более низкая интенсивность ПОЛ у крыс, получавших унитиол, по сравнению с интактной группой и группой с пропранололовой инъекцией. Например, уровень диеновых конъюгатов в крови «унитиоловой» группы был на 15–18% ($p < 0,05$) ниже, чем в крови крыс, получавших пропранолол.

Эксперименты продемонстрировали, что унитиол обладает выраженными протекторными свойствами, поскольку предварительные его инъекции снижали уровень индикатора повреждения мембран – лизофосфолипидов. К 15-м суткам экспозиции содержание этих фосфолипидов в мембранах мозга крыс практически не отличалось от контроля (табл. 2).

Уровень лизофосфолипидов в полушариях мозга крыс
в условиях повышенного радиационного фона (100 мкР/ч)
при предварительных инъекциях унитиолом и пропранололом

Группа	Срок экспозиции, день	
	15	30
Интakтная (радиация)	137,8 ± 7,9*	124,3 ± 8,8
Радиация и унитиол	103,1 ± 7,5	132,4 ± 8,3*
Радиация и пропранолол	132,8 ± 9,9*	151,4 ± 11,0**

Содержание лизофосфолипидов приведено в процентах от контроля;

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,02$.

В то же время для пропранолола не обнаружено каких-либо мембранных эффектов. Кроме того, к 30-м суткам экспозиции в группе с предварительной унитиоловой инъекцией уровень лизофосфолипидов значительно поднялся до 132,4 ± 8,3 % ($p < 0,05$). Вероятнее всего, что к этому сроку действие препарата нивелируется.

Опыты выявили, достаточно однозначно, мембранопротекторные свойства унитиола, который может оказаться весьма перспективным средством коррекции адаптационных состояний, обеспечивающих стабилизацию «подрушенных» фосфолипазами и свободно-радикальными процессами мембран.

Литература

1. Болдырев А.А. Введение в биомембранологию. – М.: МГУ, 1990. – 208 с.
2. Yakovlev V.M., Mikhailov I.V., Vishnevskii A.A., Ternovoi V.A. Adaptive modification of lipid-protein membrane structure under the influence of climatic factors of alpine regions // Human physiology. – 1994. – Vol. 19. – N 6. – P. 434–438.
3. Halliwell B, Gutteridge J.M. Free Radicals in Biology and Medicine. Sec. Ed. Clarendon Press. Oxford. – 1989. – 543 p.
4. Гогодзе В.Г., Брустовецкий Н.Н., Жукова А.А. Участие фосфолипазы А₂ в индуцируемом продуктами перекисного окисления липидов разобщении митохондрий печени крыс // Биохимия. – 1990. – Т. 55. – Вып. 12. – С. 1295–2199.
5. Аврова Н.Ф., Наливаева Н.Н., Тюрин В.А., Ветош А.Н., Тюрина Ю.Ю., Баев В.А., Васильева И.В. О способности ганглиозидов улучшать функциональное состояние организма и нормализовать биохимическую организацию клеточных мембран при гипоксии // Физиол. человека. – 1993. – Т. 19. – № 6. – С. 109–120.
6. Вельтищев Ю.Е., Юрьева Э.А., Воздвиженская Е.С. Биологически активные метаболиты мембранных глицерофосфолипидов в норме и патологии // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 2. – С. 2–9.
7. Sum T., Wang H. Translocations of proteins across the mitochondrial inner membrane but not into the other membrane // Proc. Nat. Acad. Sci. – 1989. – N 86 (21). – P. 8432–8437.
8. Verheij M., Ruiter G.A., Zerp S.F. Synergistic cytotoxic effects of alkyl-lysophospholipids and ionizing radiation // Clinic cancer research. – 2000. – V. 6. – N 111. – P. 1078–1082.
9. Терновой В.А., Яковлев В.М. Изменение содержания фосфолипидов и холестерина в тканях крыс в условиях адаптации к высокогорью при различных температурах внешней среды // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 1993. – Т. 29. – № 1. – С. 22–26.
10. Проскуринов С.Я., Федоровская О.Е. Влияние унитиола на противоопухолевую активность N-метилформамида // Вопр. мед. химии. – 1993. – Т. 39. – № 3. – С. 32–34.
11. Ильина Л.Л. Влияние повышенного радиационного фона на перекисное окисление липидов и систему свертывания крови в средне- и высокогорье: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Бишкек, 2000. – 20 с.