

УДК 577.31+577.171.53

ВЛИЯНИЕ ВСЕСТОРОННЕГО СЖАТИЯ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ

В. В. Веретяхин, А. Р. Зарицкий, М. В. Фок, А. М. Козлов¹, В. С. Пронин²

В опытах на животных показано, что всестороннее сжатие уменьшает неспецифическую проницаемость клеточных мембран.

В работе [1] обсуждался возможный молекулярный механизм прохождения молекул кислорода сквозь клеточные мембраны. Высказано предположение, что молекулы кислорода проникают в клетки почти исключительно по сквозным порам в липидном матриксе цитоплазматической мембраны, причем число этих пор может изменяться в широких пределах в зависимости от физиологического состояния клетки. Соответственно меняется и кислородная проницаемость мембран, обеспечивая постоянство напряжения кислорода в цитоплазме при возможном многократном изменении его потребления вследствие перехода клетки из состояния покоя в активное и наоборот. Стенки поры образованы гидрофобными углеводородными цепями липидных молекул, поэтому из-за сил поверхностного натяжения "жидкая" вода в нее проникнуть не может. Размер поперечного сечения поры значительно больше размера молекулы воды и, казалось бы, поры должны быть заполнены водяными парами. Однако размеры пор все же молекулярного масштаба – площадь поперечного сечения порядка 50 \AA^2 , длина $50 - 60 \text{ \AA}$. Легко подсчитать (закрывая глаза на условность применения понятия газообразного состояния к столь малым объемам), что при 37°C для одной молекулы насыщающих паров воды требуется суммарный объем $150 - 200$ пор. Это значит, что поры можно считать пустыми. Если эти предположения верны, то при всестороннем сжатии, вызванном избыточным давлением в среде, окружающей клетки, диаметр пор должен уменьшаться и

¹Всероссийский онкологический центр.

²2-я Медицинская академия.

соответственно должна уменьшаться проницаемость для частиц, способных проходить по ним внутрь клетки.

По мере повышения давления неспецифическая трансмембранная проницаемость для глюкозы должна начать уменьшаться прежде, чем для кислорода, так как молекулы глюкозы значительно больше молекул кислорода. При достаточно высоком давлении должен затрудниться и транспорт кислорода по порам. Косвенным подтверждением этого можно считать то, что, как известно, водолазы даже при дыхании специальной смесью газов испытывают две ступени ухудшения состояния: при глубинах погружения около 60 и 200 м (т.е. около 6 и 20 избыточных атмосфер).

Для того, чтобы иметь возможность судить об изменении трансмембранной проницаемости для глюкозы под действием всестороннего сжатия *in vivo* были выбраны мыши линии С57В1/К_s, в первой серии опытов – мутантные, у которых энергетический метаболизм смещен в сторону потребления углеводов. Без специальной диеты вес этих мышей в 1,5-2 раза, а содержание сахара в крови – в 3-4 раза выше нормы, характерной для здоровых животных. Таким образом, у них имеется два количественных показателя, по которым можно судить о влиянии того или иного внешнего воздействия на метаболизм.

Экспериментальных животных помещали в камеру высокого давления, в которой был необходимый запас воды и пищи. Парциальное давление кислорода в камере поддерживали близким к нормальному (порядка 150 мм.рт.ст.). Контрольную группу мышей содержали во время опыта в сходных условиях, за исключением давления, которое оставалось равным атмосферному. Продолжительность воздействия варьировали от нескольких часов до 10 суток.

Оказалось, что пребывание животных под повышенным давлением, заметно меньшим 6 атм, приводит к снижению веса и существенному увеличению содержания сахара в крови. На рис. 1 представлены результаты одного из опытов. Величина g (ось ординат) – отношение текущего веса наблюдаемого животного к весу в начале опыта. По оси абсцисс отложено время наблюдения (в сутках). g_0 – средний вес здоровых мышей данной линии. Кривые 1 – 2 относятся к контрольным животным. Их вес за время наблюдения растет. Кривые 3 – 5 относятся к экспериментальным животным, которые содержались в камере при избыточном давлении 1,5-1,8 атм в течение 7 суток.

Как видно из рис. 1, вес экспериментальных мышей существенно (в среднем на 15-20%) уменьшается в первые сутки выдерживания под давлением. Потом вес несколько стабилизируется, но после прекращения воздействия вновь убывает, а сахар остается

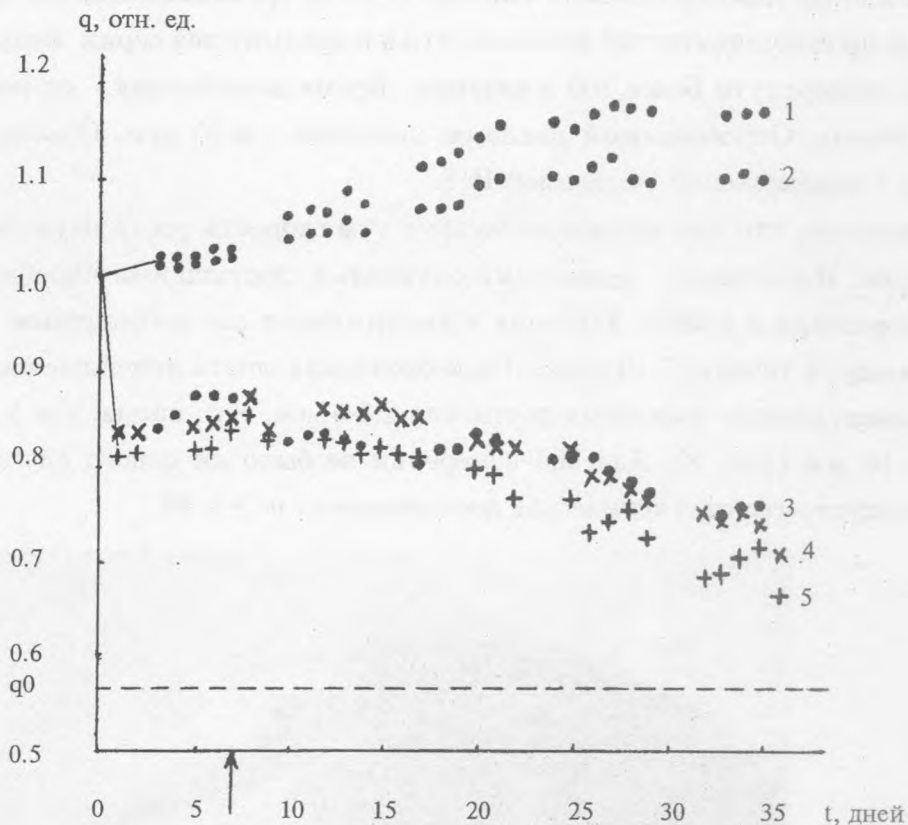


Рис. 1. Влияние пребывания под повышенным давлением на вес q мышей, больных диабетом. Кривые 1 и 2 – контроль, кривые 3 – 5 – изменение веса мышей, подвергнутых воздействию повышенного давления (за единицу принят исходный вес). Вертикальная стрелка – момент окончания воздействия давления.

на высоком уровне. Это указывает на стойкие изменения в состоянии клеток. Однако наблюдаемый эффект можно объяснить также стрессом, т.е. следствием реакции центральной нервной системы животных на неординарную ситуацию.

Для того, чтобы можно было однозначно интерпретировать полученные результаты, была проведена вторая серия опытов с мышами той же линии (но не мутантными), которым прививались опухоли Льюиса и меланомы V16.

Известно [2], что одним из характерных свойств клеток злокачественных новообразований является их относительная автономность, в частности, потеря чувствительности к гормональным и гуморальным регулирующим сигналам, поступающим от организма-хозяина. В результате этого при исследовании воздействия давления на рост клеток

злокачественных новообразований влияние стресса организма-хозяина было ослаблено.

Опыты проводились по той же схеме, что и в предыдущей серии. Воздействию давления было подвергнуто более 300 животных. Время воздействия – от нескольких часов до двух недель. Опробованный диапазон давлений – 6-20 атм. Основные результаты получены с перевиваемой меланомой В16.

Установлено, что при давлениях выше 6 атм скорость роста опухолей существенно замедляется. Животных с привитыми опухолями, достигшими линейных размеров 1-1,5 мм, помещали в камеру давления и выдерживали под избыточным давлением, как описано выше, в течение 7-10 дней. После окончания опыта линейные размеры опухолей у экспериментальных животных достигали 2,5-3 мм, в то время, как у контрольных – не менее 10 мм (рис. 2). Для 300 измерений не было ни одного случая исключений, откуда следует, что статистическая достоверность $w \geq 0,94$.

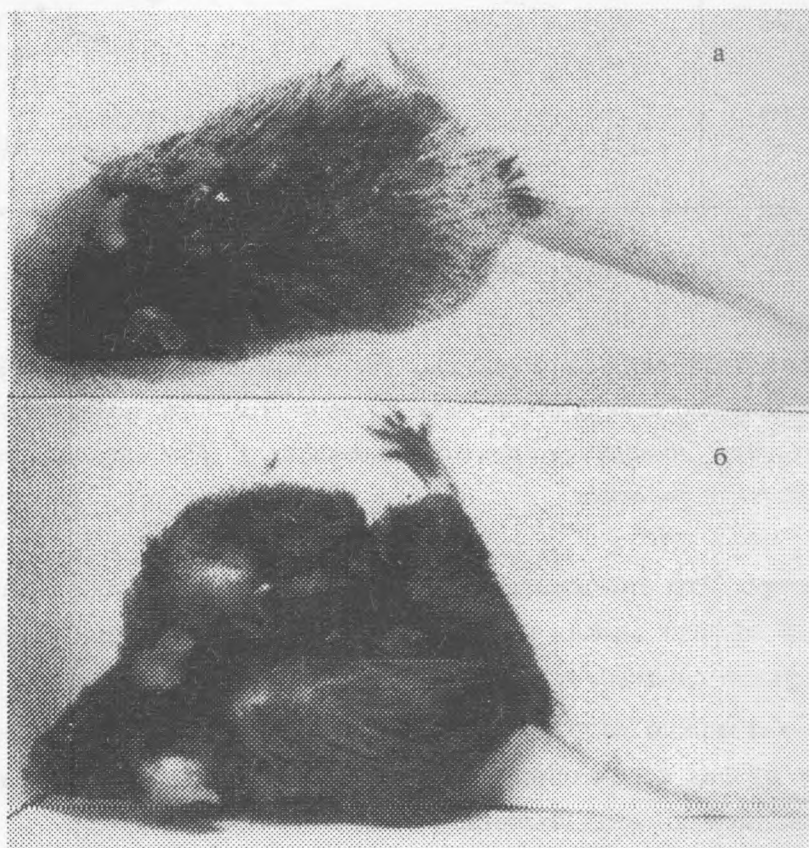


Рис. 2. Влияние повышенного давления на развитие опухоли. а – мышь подвергнута воздействию высокого давления, б – контроль.

Чем выше давление, тем более выражено замедление роста опухолей. При выдержке

под "низким" давлением 6-9 атм у мышей с привитой меланомой В16, помещенных в камеру на поздних этапах ее развития (15-20 дней от момента прививки), по результатам вскрытия и гистологического анализа наблюдается "омолаживание" опухолей: отсутствие некротических областей, прорастание в опухоль разветвленной сети мелких кровеносных сосудов и уменьшение, по сравнению с контролем, метастазирования во внутренние органы.

Воздействие "высокого" давления 14-18 атм наоборот приводило к увеличению некротических областей, составлявших иногда до 100% опухоли с разрывом кожи над ней, заполнению клетками опухоли легких, печени и селезенки, выявляемому с помощью гистологического анализа по окрашиванию. Селезенка из-за закупорки клетками опухоли ее капилляров была заполнена кровью и существенно увеличена в размерах. При коротких выдержках – в пределах одних суток – наблюдалась стимуляция метастазирования по сравнению с контролем. При увеличении времени воздействия интенсивность метастазирования монотонно уменьшалась до и ниже уровня контроля, вплоть до полного исчезновения в отдельных случаях.

Результаты проведенных исследований показывают, что повышение давления уменьшает неспецифическую проницаемость биомембран для относительно мелких молекул (глюкозы и кислорода), способных проходить по сквозным порам в липидном бислое. Предлагаемый молекулярный механизм объясняет это явление.

Мы считаем, что в первой серии опытов при действии "низкого" давления ограничивается поток глюкозы в клетки, в то время как поток кислорода практически остается неизменным. В таких условиях скорости производства глюкозы печенью и расхода ее клетками-потребителями не менялись. Неизбежными следствиями уменьшения неспецифической трансмембранной проницаемости для глюкозы у клеток-потребителей являются увеличение сахара в крови, расход запасов сахаров в клетках и связанная с этим потеря веса животными в течение первых суток.

Действительно, в результате уменьшения потока глюкозы из крови клетки вынуждены использовать запасы сахаров, которых хватает только на первые 2-3 часа [3], и далее утилизировать преимущественно жиры, которых запасено в клетках-примерно на полгода [3]. Поскольку поступление в кровь глюкозы из печени существенно не изменялось, то ее концентрация в крови возрастает пока не превышает порог ее почечной реабсорбции. Вырабатываемая печенью глюкоза (вместе с водой, поскольку молекулы глюкозы осмотически активны) удаляется из организма с мочой. При этом происходят обезвоживание организма и потеря веса, характерные для животных с диабетом. Рас-

чет показывает, что для наблюдаемой потери веса животными в течение первых суток эксперимента печень больных мышей должна была производить глюкозу в несколько раз интенсивнее, чем печень здоровых мышей, что также характерно для диабета.

Однако через сутки режим функционирования печени больных мышей перестраивается: снижается выработка глюкозы, и вес животных стабилизируется. Наблюдаемое монотонное снижение веса экспериментальных животных после того, как их вынули из камеры давления, свидетельствует о стойких изменениях клеточного метаболизма, вызванных действием давления.

Во второй серии опытов при воздействии "высокого" давления на клетки опухолей ограничивался не только поток глюкозы, но и поток кислорода в клетки. Пониженный в связи с этим уровень энергопроизводства не мог обеспечить скорость деления клеток, характерную для клеток опухоли в обычных условиях, и наблюдаемую на контрольных мышах. Следствием этого являлись замедление роста опухолей и другие вышеописанные эффекты.

Согласно предложенному механизму повышение давления должно уменьшать проницаемость для всех мелких молекул, а не только для глюкозы и кислорода. Для проверки этого необходима постановка прямых экспериментов.

В настоящее время проводится углубленное изучение влияния высокого давления на рост клеток экспериментальных опухолей. Осуществляется, в частности, поиск оптимальных режимов воздействия, приводящих к наиболее выраженным ингибирующим рост опухолей и их метаболизм эффектам.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Фок М. В., Зарицкий А. Р., Зарицкая Г. А., Переведенцева Е. В. УФН, **164**, N 3, 335 (1994).
- [2] Биология злокачественного роста. Под ред. Ю. М. Васильева, М., Наука, 1965, с. 9.
- [3] Грачев В. И., Зарицкий А. Р., Прокопенко Г. А., Пронин В. С., Фок М. В., Препринт ФИАН N 49, М., 1991.

Поступила в редакцию 5 октября 1995 г.