

УДК 511.111.:577.4

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ФОСФОЛИПИДОВ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫСЫ ПРИ СТРЕССЕ (ДЛИТЕЛЬНОЕ ПЛАВАНИЕ)

© 2019 г. С. А. Забелинский^{1,*}, М. А. Чеботарева¹, Е. П. Шуколокова¹,
Е. Р. Никитина¹, А. И. Кривченко¹

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: stas@iephb.ru

Поступила в редакцию 11.01.2018 г.

После доработки 13.02.2018 г.

Принята к публикации 15.08.2018 г.

Изучен жирнокислотный состав фосфолипидов эритроцитов крови крыс после изнуряющего плавания. Показано, что такое стрессовое воздействие не вызывает изменения содержания жирных кислот в фосфолипидах эритроцитов. Однако отмечены различия в вариабельности основных в количественном отношении жирных кислот у подвергнутых стрессовому воздействию животных по сравнению с контролем. При этом насыщенные С16:0, С18:0 и полиеновая арахидоновая С20:4ω6 кислоты имеют близкую к контролю вариабельность, а ненасыщенные (С18:1 и С18:2ω6) кислоты превышают ее в 3–4 раза. Полученные данные свидетельствуют о том, что в ненасыщенных жирных кислотах фосфолипидов мембран эритроцитов происходят изменения. Благодаря ненасыщенным кислотам в изолирующем слое между двумя поверхностными зарядами плазматической мембраны эритроцита возникает потенциал. Этот внутренний потенциал, а не только разность потенциалов с двух сторон плазматической мембраны, влияет на аквапоры и Na⁺, K⁺ каналы, через которые диффундируют молекулы кислорода. Обнаруженная чрезвычайная вариабельность ненасыщенных (С18:1 и С18:2) кислот, обладающих подвижными π-электронами, возможно связана с механизмом химического взаимодействия жирных кислот фосфолипидов в гидрофобной зоне плазматической мембраны эритроцитов в результате диффузии фосфолипидов. Аналогичный механизм химического взаимодействия осуществляется в гидрофильной (водной) зоне, т.е. “перескок” протона от иона гидроксония к молекуле воды.

Ключевые слова: эритроциты, стресс, фосфолипиды, жирные кислоты

DOI: 10.1134/S004445291901011X

ВВЕДЕНИЕ

Изучение эритроцитов (ЭЦ) осуществляется вот уже более 300 лет с момента их открытия во второй половине XVII века (около 1670 г.) Антоном Левингуком (1623–1732 г.). Результаты обширных морфологических исследований сравнительного (эволюционного) плана представлены в ряде обзоров и монографий более позднего времени [1–3]. В дальнейшем исследование эритроцитов приобрело химико-физиологический характер. В 1747 г. в крови было обнаружено железо (Fe), красящее вещество крови получило название гемоглобин (1884 г.), затем в крови были обнаружены газы, в 1886 г. установлено связывание кислорода крови гемоглобином [4]. В начале XX века началось изучение “дыхательной функции крови” – термин, введенный Дж. Баркрофтом, внесшим значительный вклад в изучение этой проблемы [5, 6]. В 60-е годы возобновляется интерес к исследованию липидов, так как были разработаны новые эффективные методы их выделения из тканей, деления на классы, определения их жирных кислот и методы субкле-

точного фракционирования. Также окончательно было сформировано модельное представление о структуре клеточной мембраны, указывающее на значительную роль липидов в мембране. В этот же период был разработан метод выделения эритроцитарной мембраны (тени эритроцитов) [7]. Все это способствовало широкому изучению как липидного состава [8], так и других биохимических параметров эритроцитов различных видов организмов [9] в норме, и при различных патологиях и воздействиях [10, 11]. В частности, в ИЭФБ им. И.М. Сеченова РАН проводились работы по влиянию различных стрессовых воздействий (иммобилизация, гипотермия, голодание, физическая нагрузка, бег на тредмиле и др.) на активность Na, K-АТФазы эритроцитов [12, 13].

Известно, что физическая нагрузка вызывает усиленное потребление организмом кислорода. Это приводит к изменению рН крови в капилляре и в клетке эритроцита, что может оказывать влияние на экстракцию фосфолипидов и на их жирнокислотный состав [14]. Эритроцит является систе-

мой, состоящей из воды, неорганических и органических веществ, свойства которой отличаются от свойств составляющих ее компонентов. Таким образом, в эритроците возникают гидрофильные и гидрофобные кислотно-основные среды, в которых диффундирует кислород. Теоретические основы искажения кислотно-основных свойств молекул гемоглобина при взаимодействии с внутренней средой эритроцита во всех деталях неизвестны. Во-первых, гемоглобин находится в гидрофильной среде. Известно, что скорость поглощения кислорода взвешьями эритроцитов значительно ниже, чем растворами гемоглобина, следовательно, плазматическая мембрана замедляет диффузию [4]. В эритроците во время нахождения в капиллярах в результате перемещения ионов возникает перемещение цитоплазмы вблизи мембраны, что создает локальное изменение pH и температуры, которые влияют на диффузию кислорода. Во-вторых, плазматическая мембрана эритроцита является гидрофобной средой, образованной из фосфолипидов и содержит канальные белки (аквапоры), через которые осуществляется диффузия кислорода. Предполагают, что мембранный потенциал эритроцитов влияет на конформацию канальных белков, что приводит к их открытию и закрытию. Следовательно, сродство и отторжение кислорода гемоглобином в эритроцитах, а также его диффузия зависят от строения всей системы, о которой говорилось выше, а не только от одного фактора – изменения кислотности в водной среде [14, 16]. Кроме того, во время экстракции из эритроцитов происходит также омыление небольшой части липидов смесью хлороформ:метанол и их перекисное окисление [15, 16], которое может отразиться на составе ЖК.

Целью данной работы было определение влияния сильного стрессового воздействия – плавления в холодной воде (до потопления) на жирнокислотный состав фосфолипидов эритроцитов крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись белая крыса (*Rattus rattus*). Крысу содержали в обычных условиях вивария на стандартном пищевом рационе. Отобранных крыс (самцов) весом 180–200 г с грузом, составляющим 7% веса крысы, опускали в ванну с температурой воды 28°C (холодной), которая на 10°C ниже температура тела крысы (38–39°C). Нагрузка в 7% веса является лишь эмпирически подобранным техническим (методическим) приемом для сокращения длительности эксперимента (потопления). Крыса интенсивно плавала, обычно в течение 6–10 мин, до момента, после которого она в течение 5–10 с не могла подняться наверх со дна (потопление). Затем крысу вынимали, обсушивали и собирали кровь для анализа. Из собранной крови (по 2–3 мл из каждой особи) выделяли эритроциты центрифугированием в течение

5 мин при 3000 об/мин (на центрифуге LMC-3000, Biosan) в ACD-растворе (96 мМ лимонной кислоты, 120 мМ цитрата Na и 200 мМ глюкозы) и гепарине, охлажденных до 0°C. Полученный осадок дважды промывали двукратным объемом 0.9% NaCl, чтобы уменьшить pH внешней среды эритроцитов и предотвратить возможное омыление фосфолипидов (ФЛ) во время последующей экстракции их в смеси хлороформ-метанол (2 : 1). В исследовании было использовано 5 особей контрольных и 5 опытных крыс. Экстракцию ФЛ из полученной фракции, определение фосфолипидного фосфора, метилирование жирных кислот и их газохроматографический анализ проводили, как описано нами ранее в статье 2012 г. Статистическую обработку результатов проводили методами вариационной статистики (с использованием программы Excel). Данные представлены как среднее арифметическое \pm стандартная ошибка среднего. Статистическую значимость различий средних величин вычисляли с помощью t-критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты по влиянию изученного стрессового воздействия представлены в табл. 1. Обращает внимание практически одинаковое среднее содержание в эритроцитах контрольных и опытных животных основных в количественном отношении (более 10%) жирных кислот (ЖК). Это касается как насыщенных, так и моноеновых и полиеновых кислот. Вместе с тем следует отметить, что другой статистический параметр – коэффициент вариативности (КВ) содержания отдельных кислот – у опытных животных значительно превышает его величину у контрольных крыс, что свидетельствует о влиянии на среднюю величину различных дополнительных причин, вызывающих варьирование основного параметра, и что степень этого варьирования специфична для каждой кислоты. Наиболее стабильной (при стрессовом воздействии) является насыщенная стеариновая (C18:0), кислота, у которой КВ почти такой же, как у контрольных крыс, тогда как у пальмитиновой (C16:0) КВ снижен на 30% по сравнению с контролем. Что касается моноеновой олеиновой (C18:1) кислоты, то ее КВ в условиях эксперимента увеличивается в 3 раза. Такое же увеличение КВ в 3 раза характерно и для эссенциальной, не синтезируемой в организме линолевой (C18:2 ω 6) кислоты, тогда как КВ ее производной высоко ненасыщенной арахидоновой (C20:4 ω 6) кислоты меняется в меньшей степени. При этом, как отмечено выше, среднее содержание всех кислот не изменяется.

Таким образом, представленные данные показывают, что вариативность содержания основных насыщенных кислот эритроцитов – пальмитино-

Таблица 1. Жирные кислоты суммарных фосфолипидов эритроцитов крысы при стрессе (плавание до потопления), % суммы ЖК

Кислота	Контроль						Стресс					
	Номер опыта						Номер опыта					
	1	2	3	4	5	среднее	1	2	3	4	5	Среднее
14:0	сл	сл	1.1	сл	0.7	сл	0.8	1.0	сл	0.5	0.5	0.7 ± 0.2
14:1	"	"	сл	"	сл	"	сл	сл	"	сл	сл	сл
15:0	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
16:0	28.0	28.8	28.2	25.3	25.4	27.1 ± 1.6	30.7	28.0	25.3	26.2	30.4	28.1 ± 1.2
17:0	0.5	0.7	0.5	0.6	сл	0.6 ± 0.1	0.5	0.7	0.5	сл	0.8	сл
18:0	21.0	20.7	22.0	26.0	26.4	23.2 ± 2.7	18.6	22.5	26.1	25.7	24.4	23.5 ± 3.1
18:1	11.0	9.6	10.0	10.5	10.3	10.3 ± 0.5	11.1	12.3	8.8	9.0	9.1	10.1 ± 1.6
18:2ω6	10.4	8.6	9.3	9.1	8.8	9.2 ± 0.7	12.5	11.7	7.8	9.8	7.9	9.9 ± 2.3
18:3ω3	сл	сл	сл	сл	сл	сл	сл	сл	сл	сл	сл	сл
20:1	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
20:2	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
20:3	0.7	0.6	0.7	"	0.6	0.65 ± 0.05	0.5	"	0.7	"	0.6	0.6 ± 0.1
20:4ω6	22.2	24.5	21.3	20.5	22.8	22.3 ± 1.5	20.2	19.7	25.1	23.3	20.4	21.7 ± 1.9
20:5 ω3	0.7	0.5	0.7	1.1	1.1	0.8 ± 0.3	сл	0.6	0.6	0.6	0.5	0.6 ± 0.03
22:4ω6	0.8	0.9	0.6	1.0	1.2	0.9 ± 0.5	"	0.7	0.8	1.2	0.7	0.8 ± 0.2
22:5ω6	1.5	1.1	1.4	0.8	0.7	1.1 ± 0.6	0.7	0.6	1.1	0.7	1.3	0.9 ± 0.4
22:4ω3	0.7	0.5	0.5	1.1	сл	0.7 ± 0.3	сл	сл	сл	сл	0.8	сл
22:5ω3	0.6	0.7	0.6	1.9	сл	1.0 ± 0.6	0.7	"	"	"	сл	"
22:6ω3	1.5	1.4	2.7	0.8	1.4	1.6 ± 0.7	1.6	0.7	1.6	1.5	1.8	1.4 ± 0.4
Насыщенные	49.5	50.2	51.8	51.9	52.5	51.2 ± 1.3	49.8	52.2	51.9	52.4	56.1	52.5 ± 1.9
Ненасыщенные	50.1	48.8	47.8	46.8	46.9	48.1 ± 1.4	47.3	46.3	46.5	46.1	43.1	45.9 ± 1.6
ИН	151.0	152.4	149.3	141.8	142.0	147.3 ± 4.5	135.0	126.9	147.8	141.5	133.6	136.9 ± 8.2
ω3	3.5	3.1	4.5	4.9	2.5	3.7 ± 1.0	2.3	1.3	2.2	2.1	3.1	2.2 ± 0.8
ω6	34.0	33.3	32.6	31.4	33.5	33.1 ± 1.3	33.4	32.7	34.8	35.0	30.3	33.2 ± 1.9
Моноеновые	11.0	9.6	10.0	10.5	10.3	10.3 ± 0.57	11.1	12.3	8.8	9.0	9.1	10.1 ± 1.5
ω3-индекс						3.7 ± 1.0						2.2 ± 0.8
Σω3/Σ ЖК (%)												

вой (C16:0) и стеариновой (C18:0) – мало подвержена влиянию стрессового воздействия. То же можно сказать и о полиненасыщенной арахидоновой кислоте (C20:4 ω6), вариabельность которой сравнима с насыщенными кислотами. Такая “устойчивость” к внешним воздействиям этих основных в количественном отношении ЖК (вместе они составляют 70% всех кислот) указывает на их определяющее значение как основы (“матрицы”) липидного бислоя мембраны, которую необходимо сохранить в любых условиях (в частности при стрессовых воздействиях), чтобы обеспечить существование самой мембраны. Вместе с тем высокая вариabельность ненасыщенных кислот – (C18:1 и C18:2ω6) – по-видимому, связана с участием их метаболитов в регулировании необходимой в условиях стресса интенсивности обменных процессов.

Другая длинноцепочечная и высоко ненасыщенная ЖК – докозогексаеновая (C22:6ω3), является производной эссенциальной кислоты ω-3 типа линоленовой (C18:3ω3). В последние двадцать лет в литературе много внимания уделяется кислотам ω-3 типа (C20:5ω3 и C22:6ω3) в связи с изменением их содержания при ряде “заболеваний века”. В 2004 г. [17, 18] предложен ω-3 – индекс (ОЗІ) как фактор риска при ряде заболеваний. Этот индекс выражает отношение суммы C20:5ω3 + C22:6ω3 кислот к общему количеству ЖК в эритроцитарной мембране в процентах. Высокий индекс ОЗІ ≥ 8% обеспечивает значительную кардиопротекцию, тогда как ОЗІ ≤ 4% не обладает таким свойством [18]. Обнаружена также связь содержания ω-3 кислот в эритроцитарной мембране при нервных заболеваниях, таких как депрессия [19], при этом в острых

Таблица 2. Вариабельность среднего содержания жирных кислот суммарных фосфолипидов крысы при стрессе (плавание до потопления)

Кислота	Контроль		Стресс	
	Среднее (%) (<i>n</i> = 5)	КВ (%)	Среднее (%) (<i>n</i> = 5)	КВ (%)
14:0	0.9 ± 0.3	33.3	0.7 ± 0.2	28.6
14:1	сл		сл	
15:0	"		"	
16:0	27.1 ± 1.6	5.9	28.1 ± 1.2	4.3
17:0			сл	
18:0	23.2 ± 2.7	11.6	23.5 ± 3.1	13.2
18:1	10.3 ± 0.5	4.8	10.1 ± 1.6	15.8
18:2ω6	9.2 ± 0.7	7.6	9.9 ± 2.3	23.2
18:3ω3	сл		сл	
20:1	"		"	
20:2	"		"	
20:3	0.7 ± 0.1	—	0.6 ± 0.1	
20:4ω6	22.3 ± 1.5	6.7	21.8 ± 1.9	8.7
20:5ω3	0.8 ± 0.3	37.5	0.6 ± 0.03	5.0
22:4ω6	0.9 ± 0.5		0.9 ± 0.2	
22:5ω6	1.1 ± 0.6		0.9 ± 0.4	
22:4ω3	0.7 ± 0.6		сл	
22:5ω3	1.0 ± 0.6		"	
22:6ω3	1.6 ± 0.7	43.7	1.4 ± 0.4	28.5
Насыщенные	51.2 ± 1.3	2.5	52.5 ± 1.9	3.6
Ненасыщенные	48.1 ± 1.4	2.9	45.9 ± 1.6	3.5
ИН	147.3 ± 4.5	3.0	136.9 ± 8.2	6.0
ω3	3.7 ± 1.0	27.0	2.2 ± 0.8	36.4
ω6	33.1 ± 1.3	3.9	33.2 ± 1.9	5.7
Моноеновые	10.3 ± 0.5	4.8	10.1 ± 1.6	15.4
ω3-индекс	3.7 ± 1.0	27.0	2.2 ± 0.8	36.4
Σω3/Σ ЖК (%)				

Примечание. КВ – коэффициент вариабельности, *n* – количество опытов.

случаях содержание ω-3 кислот уменьшается. Аналогичная картина наблюдается при нарушении когнитивных способностей людей пожилого возраста [20], а увеличение ω-3 кислот приводит к улучшению памяти у этих людей [21]. Причина такого влияния ω-3 кислот на разные клетки и ткани организма кроется в трансформации их под влиянием ряда ферментов (липоксигеназ, циклогеназ, растворимой эпоксигидролазы) в широкое разнообразие локально действующих биоактивных метаболитов [22, 23]. Приведенные в табл. 2 данные показывают, что примененное авторами стрессовое воздействие сопровождается значительным снижением ω-3-индекса (ОЗІ) с 3.7% до 2.2%, т.е. на 50%. Эти данные согласуются с литературными данными, приведенными выше, поскольку разные патологические состояния можно рассматривать

как частный случай стресса. Вместе с тем очень высокая вариабельность ω-3 кислот как у контрольных, так и у опытных животных (хотя и несколько сниженной) отражает, по-видимому, определяющую роль этих кислот в функционировании липидной компоненты эритроцитарной мембраны.

В заключение следует отметить, что полученные данные свидетельствуют об отсутствии прямого, непосредственного влияния изученного стрессового воздействия на содержание основных ЖК (C16:0, C18:0, C18:1, C18:2ω6 и C20:4ω6) мембран эритроцита. Это согласуется с данными наших более ранних исследований, не обнаруживших существенных изменений содержания ЖК при других стрессовых воздействиях, таких как бег на тредмиле, голодание разной длительности и сочетание этих двух воздействий [14, 24]. Вместе с тем само

варьирование в широких пределах содержания ЖК у подвергнутых стрессу животных может иметь отношение к каким-либо другим мембранным функциям эритроцита, например, механизму усиленного дыхания в условиях стрессового воздействия.

В настоящее время одной из проблем стрессовых воздействий на ЖК состав ФЛ является выяснение природы сил, действующих как между отдельными участками ЖК разных ФЛ, так и частями белковых молекул. Из литературы известно, что распределение ФЛ в плазматической мембране эритроцитов асимметрично, ФХ и СФМ преобладают в наружном монослое, а во внутреннем — ФЭА, ФС и п-ФЭА. Благодаря асимметрии ФЛ зона изолирующего слоя между двумя поверхностными зарядами плазматической мембраны содержит более ненасыщенные ЖК во внутреннем монослое. Согласно Г. Льюису, ненасыщенные связи жирных кислот являются основаниями, т.е. донорами электронных пар в гидрофобной зоне плазматической мембраны эритроцита. Следовательно, внутри в гидрофобной зоне ЖК ФЛ возникает потенциал, который, возможно, влияет на аквапоры и Na^+/K^+ насосы, через которые диффундируют молекулы кислорода, а не только разность электрических потенциалов с двух сторон плазматической мембраны эритроцита [15]. Между молекулами ЖК ФЛ в плазматической мембране эритроцитов действует взаимное притяжение, которое возникает в результате взаимного действия электронов и ядер. Свойства ненасыщенных молекул ЖК ФЛ определяются π -электронами. Они подвижнее σ -электронов и с легкостью вступают в химические реакции, так как являются более удаленными от оси связи, чем электроны простой ковалентной связи, что придает им заряд и возможность отдавать электроны. Известно, что каждая молекула ФЛ меняет своих соседей в результате латеральной диффузии миллион раз в секунду, благодаря чему осуществляется образование неустойчивых комплексов, которые называют комплексами с переносом заряда. Их движущиеся заряды образуют электрический ток и магнитное поле. Магнитное поле представляет собой особую форму материи. Известно, что поток электромагнитного излучения — это совокупность отдельных квантов. Лидер “квантовой революции” М. Борн сделал заключение, что волновая функция характеризует вероятность состояния реальной частицы — кванта, (а не какую-то реальность типа электромагнитной волны), для которого нет траектории. Следовательно, при физической нагрузке (плавание) возможны сбои с переносом заряда в ненасыщенных жирных кислотах фосфолипидов в плазматической мембране эритроцита, а также влияние на белки аквапор и Na^+/K^+ насосов, через которые диффундируют молекулы кислорода. Полученные данные о чрезвычайной вариабельности ЖК состава ФЛ, в особенности ненасыщенных кислот

(C18:1 и C18:2), эритроцитарной мембраны на стрессовые воздействия позволяют предположить, что возможны разные механизмы ответа на стресс. Одним из механизмов является ПОЛ, косвенным проявлением которого выражается уменьшение содержания ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов у части опытных животных. Однако у других животных наблюдается их увеличение, что возможно связано с наличием другого механизма ответа на стресс, т.е. сбоя с переносом заряда в ненасыщенных жирных кислотах фосфолипидов в плазматической мембране эритроцита у отдельных особей. Следовательно, эритроцит подчиняется закону биологии Э.С. Бауэра [25], так как основная доля эритроцитов сохраняет без изменения свой основной жирнокислотный состав (C16:0, C18:0 и C20:4 ω 6) в фосфолипидах плазматической мембраны.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Т.В. Тавровской, старшему научному сотруднику Лаборатории сравнительной биохимии фермента за помощь, оказанную в работе.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа сделана в соответствии с государственным заданием “Эволюция механизмов поддержания постоянства внутренней среды организма и их регуляция”, номер государственной регистрации 01201351572, руководитель А.И. Кривченко.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жуков Е.К. Дыхательная функция крови. Л.: Наука, 1937. 96 с.
2. Коржуев П.А. Эволюция дыхательной функции крови. М.—Л.: Наука, 1949. 182 с.
3. Житинева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Эволюция крови. Ростов-Дон, 2011. 114 с.
4. Коржуева П.А. Гемоглобин. М.: Наука, 1964. 287 с.
5. Иржак Л.И. Джозеф Баркрофт. М.: Наука, 1983. 151 с.
6. Barcroft J., Orbeli L. The influence of lactic acid upon the dissociation curve of blood // J. Physiol. 1910. V. 41. P. 355–367.
7. Dodge J.T., Mitchell C. Hanahan D.J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin — free ghosts of human erythrocytes // Arch. Biochem. Biophys. 1963. V. 100. P. 119.

8. *Nelson G.J.* Lipid composition in erythrocytes in various mammalian species // *Biochem. Biophys. Acta.* 1967. V. 144. P. 221–232.
9. *Агалакова Н.И., Ланин А.В., Гусев Г.П.* Транспорт ионов калия в эритроцитах лягушки *Rana ridibunda* // *Журн. эвол. биохим. и физиол.* 1995. Т. 31. № 2. P. 161–162.
10. *Одушко Н.П., Зеленина З.Н.* Методика исследования липидного состава эритроцитов для диагностики ишемической болезни сердца // *Лаб. дело.* 1979. № 7. С. 390–393.
11. *Benderitter M., Vincent-Genod L., Pouget J.P., Voisin P.* The cell membrane as a biosensor of oxidative stress induced by radiation exposure: multiparameter investigation // *Radiat Res.* 2003. V. 159 (4). P. 471–483.
12. *Маслова М.Н.* Активность мембранных ферментов эритроцитов при различных стрессовых воздействиях // *Физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 1994. Т. 80 (7). С. 76–80.
13. *Маслова М.Н.* Молекулярные механизмы стресса // *Росс. физиол. журн.* 2005. Т. 91 (11). С. 1320–1328.
14. *Забелинский С.А., Чеботарева М.А., Шуколюкова Е.П., Кривченко А.И.* Фосфолипиды, жирные кислоты и гемоглобин эритроцитов крови крыс в условиях стресса (плавание при низкой температуре) // *Журн. эвол. биохим. и физиол.* 2017. Т. 53. № 1. С. 16–22.
15. *Альбертс Б., Джонсон А., Льюис Д., Рэфф М., Робертс К., Уолтер П.* Молекулярная биология клетки // 2013. Т. 2. Москва, Ижевск 1736 с.
16. *Шишкина Л.Н., Шевченко О.Г.* Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность // *Усп. совр. биол.* 2010. Т. 130. № 6. С. 587–602.
17. *Harris W.S., Vjn Schacky C.* The Omega-3 index: a new risk factor for death from coronary heart disease? // *Prev Med.* 2004. V. 39. P. 212–220.
18. *Harris W.S.* The Omega-3 index: as a risk factor for coronary heart disease // *Am J Clin Nutr.* 2008. V. 87. P. 1997S–2002S.
19. *Edwards R., Peet M., Shay J., Horrobin D.* Omega-3 polyunsaturated fatty acid levels in the diet and in red blood cell membranes of depressed patients // *J Affect Disord.* 1998. V. 48. P. 149–155.
20. *Witte A.V., Kerti L., Hermannstadter H.M., Fiebach J.B., Schreiber S.J., Schuchardt J.P., Hahn A., Floel A.* Long chain omega-3 fatty acids improve brain function and structure in older adults // *Cereb Cortex.* 2013. V. 24. P. 3059–3068.
21. *Külzow N., Witte A.V., Kerti L., Grittner U., Schuchardt J.P., Yahn A., Floel A.* Impact of omega-3 fatty acid supplementation on memory functions in healthy older adults // *J Alzheimers Dis.* 2016. V. 51 (3). P. 713–725.
22. *Calder P.C.* Mechanism of action of (n-3) fatty acids // *J. Nutr.* 2012. V. 142 (3). P. 592S–599S.
23. *Zarate R., El Jbber-Vazdekis N., Tejera N., Perez J.A., Rodriguez C.* Significance of long chain polyunsaturated fatty acids in human health // *Clin. Transl. Med.* 2017. V. 6. (1). P. 25–55.
24. *Забелинский С.А., Чеботарева М.А., Тавровская Т.В., Скверчинская Е.А., Шуколюкова Е.П., Маслова М.Н., Кривченко А.И.* Влияние стрессовых воздействий на некоторые гематологические и биохимические показатели крови крыс и на энергетические межмолекулярные взаимодействия в липидном экстракте под влиянием светового излучения // *Ж. эвол. биохим. и физиол.* 2012. Т. 48 № 6. С. 548–556.
25. *Самойлов В.О.* Медицинская биофизика. СПб., 2013. 591 с.

Fatty Acid Composition of Erythrocyte Phospholipids in Rats Exposed to Stress (Prolonged Swimming)

S. A. Zabelinskii^{a, #}, M. A. Chebotareva^a, E. P. Shukolyukova^a, E. R. Nikitina^a, and A. I. Krivchenko^a

^a *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

[#] *E-mail: stas@iephb.ru*

The phospholipid fatty acid composition was studied in rat erythrocytes after wearisome swimming. It was shown that this stressful exposure does not affect the fatty acid (FA) repertoire of erythrocyte phospholipids. However, differences in the variability of quantitatively prevalent fatty acids were detected in stress-exposed animals compared to unstressed control. In saturated (C16:0, 18:0) and unsaturated (C20:4 ω 6) acids, variability was close to its control values whereas in unsaturated fatty acids (C18:1, C18:2 ω 6) it exceed those by 3–4 times. The obtained results indicate significant alterations in unsaturated fatty acid composition of erythrocyte membrane phospholipids. Due to unsaturated fatty acids, a potential arises in the insulating layer between two surface charges of erythrocyte plasma membrane. This additional internal potential, alongside with the potential difference between outer and inner surfaces of the erythrocyte plasma membrane, affects aqueous pores and Na⁺, K⁺-channels which jointly provide diffusion of oxygen molecules. The revealed extraordinary variability of unsaturated fatty acids (C18:1, C18:2) with their mobile π -electrons may be associated with the mechanism of chemical interaction between phospholipid fatty acids in hydrophobic zone of erythrocyte plasma membrane due to phospholipid diffusion. Analogous mechanism of chemical interaction (via a proton jump from the hydronium ion to the water molecule) occurs in the hydrophilic (aqueous) zone.

Key words: erythrocytes, stress, phospholipids, fatty acids