DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.06.030

科研简报

缺氧大鼠脑线粒体的能量合成特点*

Characteristic of energy synthesis in brain mitochondria of rats exposed to hypoxia

柳君泽** 高文祥 罗德成 蔡明春 (第三军医大学病理生理教研室 高原医学研究室) 重庆, 400038

线粒体是利用氧和产生能量的主要场所,机体生命活动所需能量的 80%以上来自线粒体。底物氧化脱下的 H+经线粒体内膜呼吸链的电子传递形成跨膜质子梯度,作为高能磷酸化合物形成的动力,在 ATP合成酶的作用下经磷酸化形成 ATP。脑组织具有耗氧量大、代谢率高、氧和 ATP储备少、对缺氧耐受性差等特点,是机体对缺氧最敏感的组织,因而缺氧对其结构和功能影响最早,也最严重。中枢神经系统功能障碍也是急性脑型高山病发生的直接原因。高原缺氧是乏氧性缺氧,有关低压缺氧对脑线粒体能量代谢的影响罕见报道。我们利用低压舱模拟海拔 4000 m高原环境建立了大鼠急性(3 d)和慢性(40 d)连续缺氧模型,分离提取高活性脑线粒体,观察了线粒体腺苷酸池含量、氧化呼吸、磷酸化活性、ATP合成等,现报告结果如下:

一、线粒体腺苷酸池及能荷

采用酸化破膜处理、高压液相法分析线粒体内的腺苷酸池含量,发现正常大鼠脑线粒体内 ATP含量仅占总腺苷酸池的 30%,能荷[(ATP+1/2ADP)/(ATP+ADP+AMP)]为 0.46;急性缺氧可降低线粒体内的 ATP含量 65%,能荷仅为 0.30;慢性缺氧 ATP含量降低约 34%,能荷为 0.36,比急性组有显著升高($P<0.05$),但仍低于对照组($P<0.05$)。缺氧时线粒体能荷降低、ATP含量及其在总腺苷酸池中的比例下降,提示线粒体的 ATP合成减少或/和 ATP的消耗利用增多。

二、线粒体离体 ATP合成能力

离体线粒体在有磷酸受体(ADP)和适当反应条件下,能利用介质中的氧化底物合成 ATP。结果发现,苹果酸/谷氨酸、琥珀酸、丙酮酸等不同氧化底物,其 ATP生成率(单位时间内 ATP的生成量)不同,而以丙酮酸为底物的氧化效率最高,为苹果酸/谷氨酸或琥珀酸的 2~3倍。这种差别可能与不同底物在进入线粒体时的穿梭系统有关。

急性缺氧可显著降低各氧化底物系统的离体线粒体 ATP合成能力($P<0.05$)。这种改变除缺氧对线粒体完整性的结构上损伤外,还与功能上线粒体氧化过程或/和磷酸化过程以及二者的偶联程度有关。慢性缺氧时线粒体的离体 ATP合成能力与对照组和急性缺氧组相比无统计学意义上的改变。

三、线粒体的氧化呼吸过程是跨膜质子梯度形成的基础

利用 Clark氧电极测定线粒体离体氧耗的方法发现,缺氧大鼠脑线粒体氧化呼吸活性明显改变。急性缺氧可显著升高Ⅳ态(ADP耗尽时)氧耗量一倍以上,从而降低呼吸调节比(RCR),表明线粒体基础氧耗增强,同时伴有氧化与磷酸化在一定程度上的脱偶联;而长时间(40 d)的连续慢性缺氧则显著降低线粒体的Ⅲ态(ADP存在时)氧耗($P<0.05$),表明 ADP对线粒体电子传递和呼吸的刺激作用减弱,而同时Ⅳ态呼吸和 RCR恢复至对照组水平($P>0.05$)。

四、线粒体的磷酸化过程是 ATP合成中的限速步骤

急性缺氧可显著降低磷酸化过程中的 ATP合成酶——F_0F_1-ATPase活性($P<0.01$),而慢性缺氧可使该酶活性显著回升($P<0.01$),但仍未达到对照水平($P<0.01$)。表明缺氧动物脑线粒体能量合成能力降低,除与呼吸链传递电子速度减慢、线粒体跨膜质子梯度形成障碍外,还与 ATP合成酶本身的活性降低有关,提示缺氧可直接损伤 F_0F_1-ATPase,且这种损伤是部分可逆的。

综上所述,脑组织线粒体内 ATP含量少、能荷低。急性缺氧后 ATP含量及能荷显著减少,反映了能量的供应与需求之间的失衡,表现为供不应求,而以氧化过程和磷酸化过程功能降低导致的线粒体 ATP生成能力下降是能量供应不足的直接原因。因此,急性缺氧脑线粒体代谢是以功能受损为特点。慢性缺氧后,脑线粒体能量代谢各指标几乎均有所改善,但仍未达对照水平,线粒体以功能代偿为主要特征。这种机体长期受低氧分压刺激所引发的细胞内分子适应机制,有待进一步深入探讨。

关键词 线粒体;脑;缺氧;ATP
中图法分类号 R329.24
(收稿: 1998-09-15;修回: 1998-11-27)
(编辑 张大春)

* 国家自然科学基金,No. 39600171;全军"九五"青年基金资助项目
** 柳君泽,男,37岁,副研究员,硕士
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net