

УДК 612.014 + 576.3

ПЕРСПЕКТИВИ ВИВЧЕННЯ КЛІТИННИХ МЕМБРАН

П. Г. Костюк

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

За останнє десятиріччя біологічні мембрани привертають усе більшу увагу спеціалістів цілого ряду біологічних дисциплін, а також фізико-хіміків та електрохіміків. Пояснюється це тим, що саме в цій галузі біології одержано принципово нові дані, які не тільки відкривають широкі можливості для розуміння основних життєвих процесів, але також і для створення докорінно нових технічних засобів та технологічних прийомів.

Основною властивістю мембран, що завжди складаються з невеликої кількості мономолекулярних шарів білків та ліпідів, є здатність створювати виключні можливості для спряження хімічних реакцій та потоків речовин; ці можливості відсутні в інших біологічних об'єктах, і тому мембрана виявляється носієм однієї з фундаментальних властивостей життя — обміну речовин та енергії.

На мембранних процесах ґрунтується діяльність всіх без винятку живих структур; однак, незважаючи на величезну різноманітність мембранних систем, принцип структуроутворення та функції у них виявляються надзвичайно однотипними. До цих універсальних принципів можна віднести:

I. Вибірну проникність до речовин та іонів. Будучи могутнім дифузійним бар'єром для одних сполук, мембрани виявляють високу проникність до інших. Здатність до дискримінації у біологічних мембранах при цьому набагато вища, ніж у всіх фізико-хімічних систем, що досі були створені.

II. Здатність створювати потоки молекул та іонів, спрямовані проти концентраційних та електрохімічних градієнтів (так званий активний транспорт). Використовуючи енергію обміну речовин, мембрани створюють такі потоки з однієї клітинної структури в іншу чи з клітини в позаклітинне середовище і забезпечують цим нерівноважний розподіл речовин — одну з найбільш постійних рис живого стану.

III. Мінливість функціональних характеристик при дії різноманітних внутрішніх та зовнішніх факторів (хімічні речовини, температура, електричне поле). Ця мінливість є основою всіх форм активних життєвих процесів — збудження, скорочення, секреції тощо.

Тому з'ясування механізмів, що створюють ці фундаментальні властивості живих мембранних структур, є одним з основних завдань сучасної біології, в тому числі, фізіології. Це завдання поділяється на кілька підрозділів, у розробці яких мають брати участь науковці різних галузей знання.

1. Вивчення хімічного складу клітинних мембран. Наявні дані свідчать про те, що мембрани створені складними багатокомпонентними ліпідними та білковими полімерними системами, компоненти

яких дуже варіювання цього п біохіміками.

2. Вивчення більш імовірно яка включає бі або кілька шарі вих та ліпідних скопичного та ре зичних методів д

3. Дослідже Висока здатність скаючи одні та за її особливості з мембрани. Вияв. повідають за цю розуміння механ. бути вирішене ц му рівні.

4. Дослідже бранного трансп мембранах можл мембранні іонні тричних потенці З'ясування конк іонний ток — осн на молекулярно

Таким чином стей біологічних різних наук; смі логії ця необхідн ких досліджень бран; саме тому морфологів, біохі картини мембран

Певні аспекти успішно розвива туті біохімії та I

В Інституті мів активного ме нах, а саме влас трансмембранний вана АТФаза). Е вчено їх фосфолі ну ферментну си фосфоліпіди нео [1]. Вивчено меха блокатором — оуб рактер процесу а

В Інституті ф аспект активного ти різницю потен Тут вперше створ но визначати волі клітини в ши го потенціалу. З

яких дуже варіюють у різних мембранах; зрозуміло, що точне з'ясування цього питання можливе при співробітництві з хіміками та біохіміками.

2. Вивчення молекулярної організації клітинних мембран. Найбільш імовірною за сучасними даними є ламелярна будова мембран, яка включає біомолекулярний шар ліпідів та пов'язаний з ними один або кілька шарів білків. Точне з'ясування взаємної організації білкових та ліпідних компонентів можливе з допомогою електронномікроскопічного та рентгеноструктурного аналізу, а також ряду інших фізичних методів дослідження.

3. Дослідження механізмів фізико-хімічних мембранних процесів. Висока здатність мембран дискримінувати молекули та іони, пропускаючи одні та затримуючи інші, виявляється надзвичайно мінливою; її особливості зумовлюються змінами конформації полімерних систем мембрани. Виявлення того, які саме структурні групи мембрани відповідають за цю дискримінацію та її мінливість, відкриває шлях до розуміння механізмів збудливості живих клітин; це завдання може бути вирішене цитологами та фізіологами, що працюють на клітинному рівні.

4. Дослідження механізму протигradientного («активного») мембранного транспорту. Найявні дані свідчать про те, що в біологічних мембранах можливий прямий перехід енергії хімічних реакцій в трансмембранні іонні токи, що супроводжуються виникненням різниці електричних потенціалів; інакше кажучи, здійснюється паливний елемент. З'ясування конкретних механізмів перетворення хімічної енергії у іонний ток — основне завдання біохіміків та біофізиків, які працюють на молекулярному рівні.

Таким чином, з'ясування механізмів фундаментальних властивостей біологічних мембран потребує об'єднання зусиль представників різних наук; сміливо можна сказати, що в жодній з інших галузей біології ця необхідність не проявлялась так чітко. Водночас, центром таких досліджень повинно бути розуміння функції досліджуваних мембран; саме тому фізіологи можуть бути спрямовуючою силою серед морфологів, біохіміків, фізико-хіміків, фізиків при створенні цілісної картини мембранних процесів.

Певні аспекти комплексних досліджень мембранних процесів успішно розвиваються в двох інститутах Академії наук УРСР — Інституті біохімії та Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця.

В Інституті біохімії ці дослідження присвячені вивченню механізмів активного мембранного транспорту в нервовій та м'язовій тканинах, а саме властивостей ферменту, з допомогою якого здійснюється трансмембранний перенос іонів (так званий натрій — калій — активована АТФаза). Виготовлені розчинні препарати цього ферменту, вивчено їх фосфоліпідний склад, встановлено, що він являє собою складну ферментну систему. Одержані дані дали всі підстави вважати, що фосфоліпіди необхідні для функціонування транспортної АТФази [1]. Вивчено механізм взаємодії цього ферменту з його специфічним блокатором — оубаїном, що також вказує на багатокомпонентний характер процесу активного переносу іонів [5].

В Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця вивчається інший аспект активного мембранного транспорту — його здатність створювати різницю потенціалів на мембрані (так званий електрогенний ефект). Тут вперше створені електронні установки, що дозволяють автоматично визначати вольт-амперні характеристики поверхневої мембрани живої клітини в широкому діапазоні змін фіксованого рівня мембранного потенціалу. З допомогою цього методу відкрито невідоме досі яви-

ще — потенціальна залежність електрогенного ефекту, який створюється системою активного транспорту. При зміщенні мембранного потенціалу в область значних абсолютних величин електрогенний ефект при тій самій активності транспортного механізму зменшується і врешті зовсім зникає. Це явище може бути пояснене лише тим, що перенос транспортною системою іонів натрію назовні не пов'язаний жорстко з переносом іонів калію всередину клітини (як це звичайно вважається); слід припустити, що процес переносу іонів калію значно гірше забезпечений енергією, ніж процес переносу натрію, і тому легше порушується; некомпенсованість потоків іонів всередину і назовні приводить до появи трансмембранної різниці потенціалів [2].

В цьому ж інституті одержані важливі дані про іонообмінні властивості біологічних мембран [11, 12]; при цьому показано, що в субклітинних структурних фракціях можуть знаходитись міцноутримувані іони [9].

Для з'ясування природи фізико-хімічних змін у мембранах, що лежать в основі різних форм активних клітинних реакцій, велике значення має точне визначення особливостей їх іонної проникності під час цих реакцій та пряме вимірювання іонних струмів, що виникають внаслідок цього. Такі вимірювання, можливі лише завдяки застосуванню методу фіксації напруги на поверхневій мембрані, проведені в Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР.

Результати досліджень, здійснених при застосуванні цього методу, показали, що під час генерації в нервовій клітині нервового імпульсу виникають не тільки специфічні зміни проникності поверхневої мембрани до іонів натрію та калію [3, 6], але за певних умов також до іонів кальцію; іони кальцію можуть стати навіть основним переносником зарядів у мембрані, а їх струм може спричиняти її деполаризацію та виникнення потенціалу дії [4, 7]. Посереднім засобом визначення стану іонної проникності поверхневої мембрани є дослідження змін у її потенціалі та опорі після вилучення із зовнішнього середовища певних іонів; якщо ці іони здатні проходити крізь мембрану, то їх відсутність, зрозуміло, змінює відповідні характеристики. Такий метод дозволяє вивчати природу фізико-хімічних змін у мембрані клітин, які через свої невеликі розміри важко доступні для застосування методу фіксації напруги (наприклад гладком'язові волокна) [10, 16].

Поряд із з'ясуванням фундаментальних властивостей біологічних мембран та їх змін під час виникнення у клітинах активних фізіологічних процесів, вивчення мембран дедалі стає найважливішою проблемою ряду прикладних галузей біології та медицини. Саме на рівні мембран відбуваються основні зміни у клітинах під час багатьох патологічних процесів. Розвиток ряду серцево-судинних захворювань пов'язаний із змінами мембрани клітин, що вистилають кровоносні судини; пошкодження мембрани еритроцитів лежить в основі деяких хвороб крові; мембранні процеси відіграють істотну роль у патологічних процесах, що виникають у зв'язку з тканиною несумісністю при пересадці органів і тканин. В Інституті проблем онкології АН УРСР проведені дослідження змін у структурі і властивостях мембран під час злоякісного перетворення клітини. Ці дослідження показали, що у процесі малігнізації знижується електричний потенціал поверхневої мембрани клітин, що стає помітним уже в перші дні дії канцерогену, коли ще відсутні видимі морфологічні зміни клітини [13, 14]. Водночас відзначається перерозподіл іонів між протоплазмою клітини та зовнішнім середовищем, що вказує на зміну проникності поверхневої мембрани та її властивості до активного транспорту іонів [15].

Електронномікроскопозна, індуковані канцерогенами, відбуваються плазми клітин, які ушкодження мембрани. Висновок може бути, або він справді, але навіть це дослідження мембран теоретичної медицини.

Хоч згадане у розв'язанні певних досліджень, ному значенню ці відсутність фундаментальні та молекулярні з біологічними ретинну основу, а його застосування. В ряді зарубіжних СРСР (Інститут) роко розгортають легко створюються; самі по собі властиві біологічній та питомій мікропошкодження деяких речовин, риди (наприклад надзвичайно високотемпературних формації цих антропогенних сполук. Ані порожнини циліндричної взаємодії у групі. Завдяки розчинним переносником. Не їх у штучні мембрани і надавати проникності (дифузії).

Таким чином з важливих властивостей технічних визначення активності іонів натрію, літійовою, ніж у технічних дослідженнях щодо механізмів біологічних мембран.

Є підстави вважати, що в мірі моделювання мембран, як здатних до транспорту іонів, трансмембранна здатність є основною.

2. Фізіологічний жу

Електронномікроскопічні дослідження показали, що в процесі канцерогенезу, індукованого в клітинах печінки різними хімічними канцерогенами, відбувається ушкодження та перебудова мембрани ергастоплазми клітин, які перероджуються. Отже, складається враження, що ушкодження мембран ергастоплазми відіграє провідну роль у хімічному канцерогенезі [8]. Дальші дослідження мають показати, чи цей висновок може бути поширений на весь хімічний канцерогенез у цілому, або він справедливий лише для конкретного випадку раку печінки; але навіть цей приклад демонструє виняткову важливість дослідження мембранних процесів для розв'язання найскладніших проблем теоретичної медицини.

Хоч згадане вище свідчить про значні успіхи українських вчених у розв'язанні певних питань мембранології, цілком ясно, що обсяг таких досліджень у нашій республіці ще далеко не відповідає сучасному значенню цієї галузі науки. Особливо позначається на її розвитку відсутність фундаментальних досліджень з питань фізичної хімії, електрохімії та молекулярної організації мембран, які були б тісно пов'язані з біологічними дослідженнями і створювали б для них міцну теоретичну основу, а також відкривали б шляхи для можливого технічного застосування принципів функціонування біологічних мембран. В ряді зарубіжних лабораторій, а також у деяких інститутах АН СРСР (Інститут цитології, Інститут проблем передачі інформації) широко розгортаються дослідження штучних мембран. Такі мембрани легко створюються з допомогою фосфоліпідів біологічного походження; самі по собі вони не мають тих надзвичайних характеристик, які властиві біологічним мембранам (хоча і мають близькі значення товщини та питомої ємності, а також здатність до самовідновлення після мікропошкоджень). Але введення в такі мембрани незначної кількості деяких речовин, а саме антибіотиків депсипептидної та депсидної природи (наприклад валіноміцину) різко змінює їх властивості і надає їм надзвичайно високої катіонної вибірності, подібної до вибірності протоплазматичних мембран живих клітин. Спеціальні дослідження конформації цих антибіотиків з катіонами, проведені в Інституті хімії природних сполук АН СРСР, показали, що катіон включається у внутрішні порожнини цих макромолекул і утримується там за рахунок іондипольної взаємодії з просторово упорядкованою системою полярних угруповань. Завдяки цьому катіон виявляється екранованим від взаємодії з розчинником, і утворений комплекс може служити мембранним переносником. Недавно були створені також сполуки, які при введенні їх у штучні мембрани здатні утворювати комплекси з деякими аніонами і надавати завдяки цьому таким мембранам високої аніонної проникності (дибаренілртуть).

Таким чином, вдалось відтворити у технічній системі хоча б одну з важливих властивостей біологічних мембран; на цій основі були створені технічні системи, що дозволяють проводити точне експрес-визначення активності іонів калієвої групи при наявності надлишку іонів натрію, літію чи кальцію, причому з селективністю, на порядок вищою, ніж у найкращого калій-селективного скла. З іншого боку, ці технічні дослідження дали підставу для обґрунтування нових ідей щодо механізмів високої специфічності іонної проникності самих біологічних мембран.

Є підстави вважати, що на штучних мембранах можна в певній мірі моделювати і таку істотну властивість деяких біологічних мембран, як здатність змінювати свою іонну проникність під впливом зміни трансмембранного електричного поля. В природних умовах така здатність є основою електричної збудливості клітин та їх спромож-

ності до генерації біжучого збудження. На штучних мембранах вдалося, вводячи в них деякий (поки неідентифікований) білковий компонент чи антибіотик аламідетин, також створити залежність їх іонної проникності від трансмембранного електричного поля. Змінюючи в таких умовах це поле, можна викликати на штучній мембрані електричний імпульс, подібний до потенціалу дії під час нервового імпульсу. Штучний імпульс за інтимними механізмами свого виникнення, без сумніву, значно відрізняється від природного; але вивчення фізико-хімічних змін у мембрані, що його викликають, також може сприяти винайденню нових шляхів для з'ясування природи процесів, що відбуваються в мембрані живої клітини під час її збудження.

Наведені приклади достатньо наочно демонструють важливість розширення комплексних досліджень мембран за участю фізиків, фізико-хіміків та електрохіміків, а також постійних взаємозв'язків між такими дослідженнями і здійсненням наведеної вище програми біологічних досліджень.

Водночас необхідне значне розширення фронту досліджень по вивченню мембранних процесів у біологічних інститутах; особливо необхідними є дослідження молекулярної організації клітинних мембран, які стали тепер можливими завдяки таким досконалим сучасним методам вивчення молекулярної структури, як ядерний та парамагнітний резонанс, рентгеноструктурний аналіз тощо. Без проникнення в молекулярну організацію неможливий істотний прогрес у всіх інших галузях мембранних досліджень.

Якщо таке розгортання буде здійснено, то це, без сумніву, матиме надзвичайний вплив на майбутній розвиток всіх експериментальних біологічних наук і насамперед на розвиток фізіологічної науки.

Література

1. Кірсенко О. В., Вавілова Г. Л.—Укр. біохім. журн., 1971, 43, 25.
2. Костюк П. Г., Крышталь О. А., Пидопличко В. И.—В кн.: Биофизика мембран, Каунас, 1971, 495.
3. Крышталь О. А., Магура И. С., Пархоменко Н. Т.—Биофизика, 1969, 14, 936.
4. (Крышталь О. А., Магура И. С.) Krishtal O. A., Magura I. S.—Comp. Biochem. Physiol., 1970, 35, 857.
5. Лышко В. К., Малишева М. К., Полякова Н. М.—Укр. біохім. журн., 1971, 43, 17.
6. (Магура И. С., Киш И., Крышталь О. А.) Magura I. S., Kiss I., Krishtal O. A.—Acta Physiol. Hung., 1971, 40, 221.
7. Магура И. С., Крышталь О. А.—Укр. біохім. журн., 1971, 43, 139.
8. Пинчук В. Г.—В сб.: Пути развития соврем. онкологии, К., 1970, 70.
9. Сорокіна З. О., Холодова Ю. Д.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1972, 18, 2, 196.
10. Тараненко В. М., Шуба М. Ф.—Нейрофизиология, 1970, 2, 643.
11. Холодова Ю. Д.—Биофизика, 1972, 17, 70.
12. Холодова Ю. Д., Сорокіна З. А.—Биофизика, 1970, 15, 836.
13. Шуба Е. П.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1965, 11, 258.
14. Шуба Е. П.—Цитология, 1966, 8, 387.
15. Шуба Е. П.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1968, 14, 101.
16. Шуба М. Ф., Клевец М. Ю.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1967, 13, 3.

Надійшла до редакції
30.IV 1972 р.

The A. A. Bogomoletz

During the last branches of physical which are of extreme but also for production to the fact that biology of chemical reaction of all the living structures most important principles of their investigation biochemistry, physiology and the perspective

PROSPECTS IN STUDIES OF CELL MEMBRANES

P. G. Kostyuk

The A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Summary

During the last decade studies in biology of cell membranes as well as in adjacent branches of physical chemistry and electrochemistry produced completely new data, which are of extreme importance not only for development of physiological sciences, but also for production of new technical means and technological methods. This is due to the fact that biological membranes create qualitatively new possibilities for the coupling of chemical reactions with fluxes of matters impossible in other systems. The activity of all the living structures is based on membrane processes. The article discusses the most important principles of morphogenesis and function of membranes, as well as the ways of their investigation. A short review of the most important works in membrane biochemistry, physiology and pathology carried out in the Ukrainian SSR is also presented and the perspectives of their further development are considered.