

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОМЕМБРАН

Зиямутдинова З. К, Абдуллаева Н. К, Мирзакулова Л. М

Ташкентский педиатрический медицинский институт

Аннотация: В данном обзоре представлены модели биологических мембран. Описаны химический состав и структура основных компонентов мембран. Представлены основные факторы, влияющие на ассиметричное расположение липидов в мембране. Показано, что плазматическая мембрана обладает уникальными функциями, регулирующими основные процессы, проходящие в клетках, повреждение которых может привести к гибели клеток.

Ключевые слова: Мембрана, модели, липиды, липидный бислой, рафты.

Организм человека и животных невозможно представить без клеток, а клетки невозможно представить без биомембран, разделяющих и сохраняющих «внутренний мир» клетки от внешнего пространства. Такая обособленность содержимого клетки от внешней среды является одним из непреложных признаков жизни. Через мембрану обеспечивается взаимодействие клетки с внешней средой, избирательно пропускаются многие вещества. Плазматическая мембрана (клеточная мембрана, цитоплазматическая мембрана, плазмолемма) является «ареной» протекания большого количества биохимических процессов благодаря множеству ферментов, белков, а также липидных компонентов (фосфолипидов, гликолипидов, холестерина, сфинголипидов). Физико-химические свойства и структурная архитектура мембраны в ходе эволюции были так подобраны, что была создана эффективная платформа для функционирования мембранных компонентов (1,2).. Цитоплазматические мембраны всех клеток определяют пространственную идентичность и формируют границу между вне- и внутриклеточным пространством. Исследователи, как прошлых столетий так и в настоящее время, активно изучают свойства липидов и белков в составе мембран и выдвигают теории (модели) построения мембран. Так, в 1773 году активный деятель и один из «основателей» США Бенджамин Франклин провел серию экспериментов по измерению площади масляных пятен на поверхности пруда, остающихся от ложки (5 мл) растекающегося оливкового масла: пятна неизменно оказывались размером $\approx 2000 \text{ м}^2$. Если бы он имел в то время представление о молекулярном строении вещества, то он легко сумел бы вычислить площадь, приходящуюся на одну молекулу триглицерида олеиновой кислоты (основного компонента оливкового масла) в этом мономолекулярном пятне.

Более ста лет спустя Чарльз Овертон обнаружил, что через биомембраны могут проникать вещества, хорошо растворимые в липидах. Поэтому он пришел к заключению, что мембрана образована тонким липидным слоем. Известно, что впервые была описана модель биомембран, полученная экспериментальными исследованиями плазмолеммы, где мембраны назывались тенями эритроцитов. В 1920-м году у исследователей возникла идея *бислойности* мембраны. И. Гортнер и А.Грендель измерили площадь экстрагированных липидов из теней эритроцитов и обнаружили, что монослой липидов, выделенных из мембран эритроцитов, ровно вдвое превосходит площадь поверхности

самих клеток: вдвое больше площади, образованной липидами, которые находились в эритроцитарной мембране. Это послужило поводом для предположения бислоевой липидной организации биологических мембран (7). Однако, тогда же было замечено, что мембрана содержит значительное количество белков, которые сильно влияют на ее свойства, в частности, на поверхностное натяжение. Это открытие повлекло появление концепции мембраны-«сендвича», согласно которой липидный бислой заключен между двумя слоями белка, как слой масла в бутерброде. В 1935 году Н. Даусон и Р. Даннелли описали бутербродную модель мембраны, у которой средняя часть представлена бимолекулярным слоем липидов, а на обеих его поверхностях находятся белки (13). Прошло несколько десятилетий (40 лет), пока точные данные по соотношению белков и липидов в мембранах различных клеток и современные методы исследования (такие как рентгеноструктурный анализ и электронная микроскопия) не доказали ошибочности этого представления. На самом деле, белки не окружают бислой, а они в него «встроены», подобно элементам мозаики. В 1972 году С. Синджер и Г. Николсон (20) предложили жидкостно-мозаичную модель мембраны, где мембрана представляет собой жидкий фосфолипидный бислой, в котором свободно перемещаются белки, представляя картину мозаики. В последующем эта модель подвергалась критике, так как не все белки в мембране свободно перемещались в жидком липидном слое. Согласно этой теории, мембрана представляет собой липидный «океан», в котором плавают белковые молекулы. Молекулы белков сравниваются с айсбергами, плывущими в жидкой а точнее- жидкокристаллической мембране- океане (7,14). Жидкостно-мозаичная модель строения мембраны остается фундаментальным принципом строения биологических мембран, а также несмотря на все препятствия, является «последней классической» теорией построения мембраны. Она естественно, с одной стороны, устарела, а с другой стороны, современные представления и достижения в изучении мембраны не достаточны для изменения и обновления теории построения биологической мембраны. Несмотря на некоторые недостатки этой теории построения мембраны она остается в настоящее время фундаментальным принципом строения биологических мембран. Согласно этой теории, мембрана представляет собой липидный «океан», в котором, наподобие айсбергам, плавают молекулы белков. Сравнение с океаном происходит из-за того, что агрегатное состояние в мембране жидкое (жидко-кристаллическое), благодаря структурным компонентам, особенно липидам. Липиды амфифильные молекулы, имеющие полярную (гидрофильную) головку и неполярный (гидрофобный) хвост. (2) Они малорастворимы в воде и склонны к образованию моно- и бимолекулярных слоев благодаря своей амфифильной природе. Жидкостность мембран определяют, в основном, липидные компоненты мембран: фосфолипиды гликолипиды сфинголипиды и холестерол. Фосфолипиды, входящие в состав средней части биомембран, образуют бислой и определяют состояние и функциональные возможности биомембран в целом (5,8). Фосфолипиды амфифильны. Они состоят из четырех элементов: глицерина, двух жирных кислот с длинной углеводородной цепью, фосфорной кислоты и азотистого основания. Фосфолипиды различаются составом жирных кислот и азотистыми основаниями. Самыми распространенными фосфолипидами являются следующие фракции: фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидисерин (ФС), фосфатидилинозитол (ФИ), сфингомиелин (СФМ). Фосфолипиды в составе мембраны составляют более 60%, определяя свойства и функции мембран, благодаря амфифильности. Они имеют полярную гидрофильную головку, образованную азотистым основанием и фосфорной кислотой, а также гидрофобные хвосты, образованные остатками жирных кислот. Сфинголипиды также имеют полярную головку и два неполярных хвоста, у них отсутствует глицерин. Сфинголипиды построены из одного остатка жирной кислоты, одного остатка сфингозина (два гидрофобных ацильных хвоста) и одного остатка полярной головки (оложительно заряженный остаток холина и отрицательно заряженный остаток фосфорной кислоты). Холестерин содержит гидроксильную группу у третьего углеродного атома и алифатическую разветвленную цепь (9). Гликолипиды (11) имеют в качестве полярной головки один или несколько остатков сахаров: N-

ацетилглюкозамин и N –ацетилнейраминовую кислоту, остальная часть неполярная (остаток жирной кислоты, сфингозин, D-глюкозу и D-галактозу.) В такой структуре (4,8) взаимодействие белков с гидрофильными головками фосфолипидов носит полярный характер, а взаимодействие белков с гидрофобными хвостами фосфолипидов осуществляется посредством гидрофобных аминокислот.

Итак, основу плазматической мембраны составляют липиды, которые вместе с холестерином образуют липидный бислой, что способствует поддержанию соответствующей температуры в пределах мембраны, необходимой для придания мембране текучести. Текучесть мембраны зависит от липидного состава и температуры окружающей среды. Увеличение количества ненасыщенных жирных кислот с двойными связями в составе липидов мембраны усиливает текучесть мембраны. Мембрана состоит из компонентов, которые слабо связаны между собой, поэтому они могут перемещаться в плоскости мембраны, придавая мембранам гибкий характер, называемый текучестью. Однако распределение липидов и белков в плоскости мембраны неоднородно и обладает латеральной гетерогенностью: в пределах жидкокристаллической фазы появляются микрофазы, не смешивающиеся между собой, что обеспечивает сортировку мембранных белков в различные компартменты в пределах одной и той же поверхности, повышая эффективность взаимодействия белков между собой. (16).

Все мембраны содержат одни и те же компоненты, имеющие небольшие различия в количественном и качественном отношении. Распределяются фосфолипиды в бислой мембраны ассиметрично. Так, в мембранах эритроцитов (более 60% фосфолипидов) на ее внешней стороне бислоя располагаются СФМ (26%) и ФХ (28%), а на внутренней - ФС (13%), ФЭ (27%). В состав мембран эндоплазматического ретикулума входят фосфолипиды 85% из них ФХ-50-60% СФМ-5%, ФЭ-20%, ФС-2-8%, а на долю гликолипидов приходится 2.8%. В составе мембран митохондрий фосфолипиды составляют 80% на внутренней мембране расположены ФС, ФЭ, ФИ, КЛ, на наружной мембране - ФХ, СФМ. Ассиметричное расположение липидов в мембране поддерживается за счет ряда ферментов. Например, Mg-АТФ-зависимая аминокислот-фосфолипид-транслоказа (флипаза или АТФ-аза 11) отвечает за расположение ФС и ФЭ на внутреннем монослое мембраны путем переноса этих фосфолипидов из наружного слоя на внутренний против электрохимического потенциала (19). Активность флипазы ингибируется высокой концентрацией Ca^{2+} , ацетилфосфатом. При этом нарушается ассиметрия фосфолипидов. Нарушение ассиметрии фосфолипидов может произойти также за счет активации скрямбазы, которая приобретает активность при высокой концентрации ионов кальция, что приводит к перемещению фосфолипидов в обоих направлениях (флип-флоп). Процесс перемещения липидов в мембране проходит с затруднениями из-за того, что полярные головки затрудняются пройти через гидрофобный слой. Выявлено, что липиды внутренней стороны мембраны имеют более высокую скорость миграции, чем липиды наружной стороны. Однако, если ФС появляется в наружном слое мембраны, то это приводит к усилению способности эритроцитов активировать функцию макрофагов (7). Текучесть внутреннего монослоя больше чем внешнего из-за того, что хвосты жирных кислот ФХ и СФМ более насыщены, что делает этот слой менее текучим. Наличие холестерина в наружном слое мембраны уменьшает подвижность жирных кислот, а также уменьшает смещение липидов и белков, изменяя этим их функции. Отрицательно заряженный ФС, связанный с регуляторными и структурными белками, появившись на наружном монослое, превращается в апоптотический фактор, а также говорит о злокачественном перерождении и запускает программы фагоцитоза и свертывания крови. А также изменяется соотношение зарядов на внутренней и внешней сторонах бислоя мембраны (Атомы углерода в углеводородных цепях жирных кислот соединены одинарными связями, вокруг которых различные участки цепи могут вращаться, что приводит к приобретению цепями различных конфигураций. За счет изгиба цепей молекулы фосфолипидов приобретает более вытянутую конфигурацию, приводящую к оптимальному расположению всех углеродных атомов относительно друг друга. Такая

конфигурация называется транс-конфигурацией. Альтернатива транс-конфигурации является гош-конфигурация. В мембранах жирнокислотные цепи стиснуты соседними молекулами, а свободная форма клубка для фосфолипидной молекулы не реализуется. Поэтому в этой конфигурации, углеводородная цепь остается вытянутой вдоль оси. (3). Известно, что мембранные липиды заслуживают внимание участием в регуляции гормонального эффекта. Регуляция эффекта гормонов через аденилатциклазную систему связана с присутствием в мембране ФИ и ФС. Эти фосфолипиды регулируют чувствительность циклазы к адреналину, гликогену, тиреоидным гормонам. От липидов мембраны зависят активности Na^+ , K^+ -АТФазы, Mg^{2+} -АТФ-азы, нуклеотидазы. Предполагается, что активные центры этих ферментов располагаются в основном на плазматической мембране, а фосфолипиды взаимодействуют с каталитической субъединицей ферментов. ФС выступает кофактором протеинкиназ путем взаимодействия между жирнокислотными цепями ФС с гидрофобными участками фермента. ФЭ, ФХ влияют на активность элементов дыхательной цепи, активность цитохромоксидазы. КЛ является маркерным липидом для митохондрий и играет важную роль в функционировании электронпереносящих систем. ФИ участвует в образовании АТФ; ФХ, ФС, ФИ участвуют в комформации цитохром-Р450и участия его в микросомальном окислении. Функции липидов в мембранах можно объединить в 4 основных типа: 1) барьерная; 2) участие в реализации действия гормонов, медиаторов; 3) участие в мембранном транспорте; 4) на активность ферментов.

К изменению физико-химических и функциональных мембран приводит ряд патогенных факторов: усиление перекисного окисления липидов (ПОЛ), активация протеаз, фосфолипаз, уменьшение количества антиоксидантов, гипоксия и т.д (6). Индукция ПОЛ приводит к нарушению кальций - транспортирующей функции клеток с увеличением проницаемости мембраны эндоплазматического ретикулума для ионов кальция через образующиеся каналы двух видов: 1) локализованные в локализованные в бислойных участках мембран « или так называемые «пассивные каналы» или «перекисные пластыри», 2) локализованные в липопротеидном комплексе кальциевого насоса «активные каналы», зависящие от функционального состояния Ca^{2+} -АТФ-азы. Накопление ионов кальция в цитозоле приводит к активации фосфолипаз сиалидаз, протеаз, деградирующих фосфолипиды, гликолипиды, белки - составные компоненты мембран, с нарушением проницаемости мембран, метаболизма в клетках, вымыванию ферментов из клеток в кровь повреждению защитного липидного слоя и развитию иммунодефицита (12).

Липидная компонента, будучи жидкой, тем не менее , способна образовывать частично изолированные области бислоя, обладающие особыми структурными свойствами(21) Эти участки представляют собой кластеры(островки) молекул липидов, предельно упорядоченные и твердые, чем окружающая их более жидкая фаза. В конце 1990-х годов такие кластеры получили название рафтов. Подобное название было дано новой теории организации биологических мембран. Существование двух жидких липидных фаз оказывается возможным, если липидная смесь имеет минимум три компонента: "тугоплавкий" липид (температура плавления выше физиологической, насыщенные хвосты и высокая склонность образовывать водородные связи с соседями , а также наличие холестерина и сфингомиелина и "легкоплавкий" липид (низкая температура плавления, ненасыщенные "хвосты") липидов. В мембране образуются частично изолированные области бислоя, обладающие особыми структурными свойствами. Эти участки представляют собой кластеры "островки" молекул липидов, упорядоченные и "твердые", чем окружающая их "жидкая фаза". Эти кластеры были названы " рафтами". Мембранные рафты-это маленькие (10-200 нм) гетерогенные и очень динамичные кластеры , обогащенные холестерином и сфинголипидами. Липидные рафты, несмотря на свои маленькие размеры, могут составлять относительно большую долю плазматическиз мембран и выполнять конкретные функции. Прлученные к сегодняшнему дню резульбаты раскрывают перспективу дальнейших

исследований функционирования рафтов и их участия в клеточной сигнализации, регуляции функционального состояния клеточных мембран. Это необходимо для раскрытия определенных звеньев патогенеза и разработки эффективных средств патогенетической терапии и полноценной профилактики целого ряда заболеваний. Они участвуют в клеточной компартиментализации и стабилизируются за счет белок – белковых и белок - липидных взаимодействий, формируя более крупные платформы. Рафты участвуют в мембранном транспорте. Предполагается, что рафты играют ключевую роль во внутриклеточном транспорте белков, активности рецепторов, прежде всего рецепторов в цитоплазму и ядро клетки. В составе рафтов выделены некоторые клеточные белки: рецепторы тирозинкиназы, G- протеины, рецепторы T-и B-клеток (17,18). Секретия и доставка мембранных белков начинается с эндоплазматического ретикулума (ЭР) с остановкой в комплексе Гольджи. В этом транспорте играет роль жидкая упорядоченная фаза – рафты. Существуют три различных сайта выхода везикул с белковым «грузом» из ЭР: два из них отвечают за транспорт секретуемых и мембранных белков, а третий является «портом отправления» ГФИ – заякоренных белков, расположенных внутри рафтов. Таким образом на стадии ЭР эти белки транспортируются в везикулах, по составу близких к рафтам, насыщенных холестерином и церамидами.

Аналогичная ситуация и с комплексом Гольджи, откуда к мембране идут везикулы, либо покрытые клатриноподобной белковой оболочкой, либо состоящей из рафтовых липидов. Сама гипотеза рафтов была выдвинута в связи наблюдением процесса сортировки белков и липидов в комплексе Гольджи. Оказалось что к поверхности эпителиальных клеток отправляются пузырьки, несущие строго определенные белки. Было установлено, что некоторые ферменты, участвующие в синтезе холестерина и сфинголипидов, необходимы для доставки рафтовых белков в мембрану клетки. (10,15) Рафтовые липиды способны взаимодействовать с бактериальными токсинами (холерные токсины), формируя «бублик», провоцируя образования в виде «трубочек» что лежит в основе захвата вируса в клетку и токсического действия этих микроорганизмов. Ученые выявили, что рафты способствуют проникновению вирусов в клетку. Их количество влияет на риск возникновения заболеваний. Препараты, с помощью которых можно снизить плотность рафтов станут лекарством от гриппа, ВИЧ и других вирусных заболеваний. У некоторых вирусов поверх белковой капсулы – капсида есть еще суперкапсид - дополнительная оболочка из липидной мембраны с добавлением белков. Мембрану вирусы заимствуют у клетки, а белки могут быть хозяйские или вирусные. Когда вирусы сближаются с клеткой, их мембранная оболочка сливается с клеточной мембраной, помогая вирусам проникнуть внутрь клетки. В этом процессе помогают специальные белки, сидящие в их мембранах, и помогающие соединиться с мембраной клетки, позволяющие вирусу закрепиться в мембране и начать слияние и деформацию мембран. Рафты взаимодействуют с вирусными белками и играют решающую роль в слиянии. Предполагают, что там, где вирусные белки слияния атакуют клеточную мембрану и в ней окажется рафт, то вирусу будет легче проникнуть в клетку. Итак, наблюдается наличие как положительного так и отрицательного контроля передачи сигнала (20). В случае положительного контроля рафт, содержащий различные сигнальные протеины, может кластеризоваться или наоборот выступать в роли предохранителя, приводя к движению компонентов и активации путем сигнала (19). При негативной роли, рафты могут разделять компоненты для блокирования активации сигнальных путей или подавлять активность сигнальных белков. Если каким либо-путем повысить упругость клеточных мембран (повысить количество холестерина или сфинголипидов), то это затруднит проникновение вируса в клетку и предотвращает развитие инфекционных заболеваний (грипп, ВИЧ и т.д.). Поэтому, препараты, понижающие плотность рафтов, могут быть лекарством от этих заболеваний. Итак, липидные рафты проливают свет на происхождение метаболических нарушений при различных патологиях: рак, резистентность к инсулину, воспаление, сердечно-сосудистые и инфекционные заболевания, болезнь Альцгеймера и других.

Литература:

1. Боровская М.К., Кузнецова Э.Э. и др. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцитов и ее изменения при патологии разного генеза//Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. - 2010. - №3 (73). - с.334-354.
2. Владимиров Ю.А. Биомембраны. Строение, свойства, функции. //-2002. -Т.19.№5.- с.355.
3. Зиямутдинова З.К., Акбарходжаева Х.Н., Исмаилова Г.О., Шертаев М.М. Проблема патогенеза атеросклероза. //Научно-практический журнал «Педиатрия». -№2. -с.199-205.
4. Зиямутдинова З.К., Исроилов А.А. Изменение ганглиозидного состава мембран в органах крыс с токсическим поражением печени. //Туркестан. -2019. с. 333 – 344.
5. Зиямутдинова З.К., Хасанбаев И.Д., Мирзакулова Л.М. Изменение фосфолипидного состава мембран органов крыс с токсическим поражением печени. // Туркестан. -2019. - с.34-35.
6. Кожевников Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии //Вопр. мед. химии. - 1985. - №5.- с.2-7.
7. Мухамедзянова С.В., Пивоваров Ю.И., Бегмановат О.В. Липиды биологических мембран в норме и патологии. //АСТА Biomedica Scientifica/ - 2017. -Т.2, №5.- С.43-49.
8. Рабинович А.Л., Корнилов В.В., Балебаев Н.К. Свойства бислоев ненасыщенных фосфолипидов: влияние холестерина. //Биологические мембраны. - 2007.-Т.24, №6.- с.490 - 505
9. Шевченко О.Г.Роль холестерина структурной организации мембран эритроцитов//Вестник института биологии. - 2010. - №6.- с.10-14.
10. Bretscher M.S. Cholesterol and the Golgi apparatus // Science. – 1993. – V.261
11. Brown D.A Structure and function of sphingolipid – and cholesterol – rich membrane rafts // Biological chemistry. – 2000. – V.275
12. Dalete D.L. Regulation of transilayer plasma membrane phospholipid isometry. Lipid Res, 2003. – 44. – 23. - 242
13. Danielli J.F. Contribution to the theory of permeability of membranes for electrolytes. Gen Physiol, 1935. – 5495. - 505
14. Edin M; The state of lipid rafts from model membranes to cells // Biophysics Biomolecular structure – 2003. – V.32
15. Filipova Oradd G., Lindblom G. // The effects of cholesterol on the lateral diffusion of phospholipids in oriented bilayers // Biophysics. - 2003.-p.84.-3079-3086
16. Jacobson K.O. Muoritcen O.G. Richazd G.W lipid rafts at a croesroad betuseen cell biology and physics// 2007. –p.9 -7 -14
17. Lingwood D. Lipid rafts as a membrane organizing Principe // Science – 2010. – V. 327 – p.46-50
18. Risselada H.J Marrink S.Y The molecular fa.ee of lipid rafts in mole membranes // Proc. Of national Academy of sciences 2008.-p.105. – 17367. -17372
19. Simons K. Lipid rafts and signal transductions Nat.Rev.Mol cell Biol. - 2000. - V.1 –p. 31-39
20. Singer S.J The fluid mosaic model of the structure of cell membrane // Science.- 1972.-175.-p.720.-731.
21. Somerharu P, Virtanen J.A, Chen K.H. The superlattice model of lateral organization of membranes and its implications on membrane lipid homeostasis. Biochim. Biophys. Acta. - 1788.-p.12-23