

## Механізми проникності клітинних мембран для води і кріопротекторів

О.І. ГОРДІЄНКО, О.В. ДАВИДОВА, О.В. САКУН

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

## Mechanisms of Cell Membrane Permeability for Water and Cryoprotectants

O.I. GORDIENKO, O.V. DAVYDOVA, O.V. SAKUN

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine  
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Проникність клітинних мембран для кріопротекторів є пасивною. В той же час, якщо кріопротекторна речовина задіяна в процесах метаболізму клітини, її проникання в клітину може забезпечуватись спеціальними механізмами. Пасивна проникність клітинної мембрани для кожної конкретної речовини визначається фізико-хімічними властивостями молекул цієї речовини.

Мета роботи – вивчення проникності мембран еритроцитів людини та дріжджових клітин *Saccharomyces cerevisiae* до низки кріопротекторів. Широкий спектр досліджених речовин обумовив можливість порівняти фізико-хімічні властивості молекул в гомологічних рядах та серед структурних ізомерів і з'ясувати вплив цих властивостей на їх проникність крізь біологічні мембрани.

В результаті проведених досліджень показано, що малі гідрофільні молекули (діаметром приблизно до 4Å) вільно проникають крізь водні канали, утворені білковими структурами в мембрані еритроцита людини. В деякій мірі вони проникають також і крізь ліпідну фазу. При зростанні ліпофільності молекул збільшується ймовірність їх проникання крізь ліпідну фазу. В той же час проникання крізь ліпідний бішар характеризується більшим значенням енергії активації. Цілком можливо, що механізм проникання малих гідрофільних молекул крізь ліпідний бішар відрізняється від механізму проникання ліпофільних молекул шляхом розчинення безпосередньо в ліпідній фазі. Але в цих випадках розмір молекул також може впливати на коефіцієнт проникності: в першому випадку – через обмеження розмірів флукуаційних гідрофільних пор або дефектів у ліпідному бішарі, в другому – внаслідок залежності енергії переходу з однієї фази в іншу від площі поверхні молекули. Аналіз результатів дослідження впливу температури на проникність мембран еритроцитів для кріопротекторів свідчить про існування термоіндукованих змін енергії активації проникності еритроцитарних мембран при температурах 8–12, 18–20 та 25–30°C. Визначені температури зломів ареніусових залежностей знаходяться в інтервалах температур, відомих як критичні, де відбуваються зміни швидкостей багатьох біологічних процесів, пов'язаних із мембранами еритроцитів. За температурними залежностями визначені енергії активації процесу переносу кріопротекторів крізь мембрани еритроцитів та дріжджів. Відомо, що гліцерин є суттєвим компонентом метаболізму дріжджових клітин, а їх мембрани містять спеціалізовані канали транспорту гліцерину і води. Це підтверджується нижчими значеннями енергії активації проникання гліцерину у дріжджові клітини порівняно з еритроцитами людини (26 та 40 кДж/моль відповідно).

Cell membrane permeability for cryoprotectants is passive. At the same time if cryoprotective substance is involved in cell metabolic processes, its permeability into a cell may be provided by special mechanisms. Passive permeability of cell membrane for each substance is determined by physical and chemical properties of this substance molecules.

The research was aimed to study the membrane permeability in human erythrocytes and *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells for some cryoprotectants. A wide range of substances under study stipulated the possibility to compare physical and chemical properties of molecules in homologous series and among structural isomers and to find-out the effect of these peculiarities on their permeability through biological membranes.

As a result of the research performed, the small hydrophil molecules (of about 4Å diameter) were shown as easily penetrating through water channels, formed by protein structures in human erythrocyte membrane. They penetrate in some extent through a lipid phase as well. With an increase in molecule lipophilicity, the probability of their penetration through lipid phase augments as well. At the same time the penetration through lipid bilayer is characterised by a high value of activation energy. It is fully possible that the penetration mechanism of small hydrophil molecules through a lipid bilayer differs from that of lipophil molecules via dissolving directly in a lipid phase. However in these cases the molecule size may also affect the permeability coefficient: via limiting sizes of fluctuating hydrophil pores or defects in lipid bilayer in the first case and as a result of the dependency of transition energy from one phase into another on the molecular surface area in the second one. The analysis of investigation results of temperature effect on erythrocyte membrane permeability for cryoprotectants testifies to the existing of heat-induced changes in activation energy of erythrocyte membrane permeability at 8–12, 18–20 and 25–30°C. The revealed temperatures of kinks on Arrhenius dependencies are within the temperature range, known as critical, where the changes in the rates of many biological processes, associated to erythrocyte membranes, occur. The activation energies of cryoprotectant transfer process through erythrocyte and yeast membranes have been determined by temperature dependencies. Glycerol is known as the essential component of metabolism in yeast cells and their membranes contain the specialised channels for glycerol and water transport. This is confirmed by lower values of activation energy of glycerol penetration into yeast cells than in human erythrocytes (26 and 40 kJ/mol, correspondingly).