

## ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ МЕМБРАН: ІСТОРИЧНИЙ ЕКСКУРС

**Т. Рибальченко, М. Держинський, С. Опанасенко, В. Рибальченко**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна*

*e-mail: taras\_rybal@ukr.net*

В оглядовій статті подана коротка історія етапів розвитку вчення про біологічні мембрани з самого початку до середини ХХ століття. Показано, що першим у світі наукове обґрунтування біоелектричних явищ сформулював В.Ю. Чаговець – професор Київського університету імені Тараса Шевченка.

*Ключові слова:* біологічні мембрани, моделі мембран, основні відкриття у мембранології.

Сучасній біології як комплексу прогресуючих наук притаманний підвищений інтерес до еволюції наукових ідей, творчої діяльності видатних учених і їхніх шкіл. Аналіз історичного шляху розвитку мембранології загалом і окремих її розділів та аналіз науково-методичної бази дають можливість оцінити і сучасний стан дисципліни з метою визначення перспектив її розвитку. На рубежі ХІХ і ХХ століть мембранологія почала набувати ознак самостійної науки завдяки дослідженням В. Пфєффера, В.Ю.Чаговця, Е. Овертона, Е. Гортера, Ф. Гренделя та ін. [11, 19, 29, 31]. Цьому сприяв інтенсивний розвиток медицини, широке впровадження експериментальних методів у дослідження клітин, винайдення й удосконалення приладів та ін.

Мембранологія як наука має свою історію розвитку. Незважаючи на наявність великої кількості робіт, присвячених молекулярній організації та функціям мембран, історія розвитку і становлення цієї галузі біологічних наук в Україні до сьогодні не стала предметом систематизованих досліджень. Лише у середині ХХ ст. з'явилися книги й нариси з історії фізіології та електрофізіології, у яких містяться лише фрагментарні відомості про дослідження українських вчених-мембранологів. В узагальнюючих історіографічних дослідженнях увага авторів зосереджена переважно на констатації історії біологічних наук у контексті загальноросійської науки і культури [8]. Більшість історико-наукових праць написані російською мовою (часто із замовчуванням досягнень українських учених [5, 6]), що нерідко ускладнює інтерпретацію наукових матеріалів не тільки студентами, а й

викладачами національних навчальних закладів.

Таким чином, аналіз літератури із мембранології свідчить, що вибрана нами тема в історичному плані не вивчалась. Певне відображення знайшли тільки окремі її аспекти. У жодній із цитованих та інших проаналізованих робіт історичного плану не подано повної цілісної картини становлення і розвитку мембранології на теренах України, не наведено основних етапів цього розвитку і не показано творчого внеску видатних вітчизняних мембранологів (переважно електрофізіологів) та наукових шкіл.

Тому метою даної роботи є історико-логічний аналіз і відтворення цілісної картини національної історії біології за рахунок відображення закономірностей становлення і розвитку мембранології в Україні від початку і до 60-х років ХХ століття, розкриття важливості творчого доробку видатних мембранологів Київського університету для світової мембранології.

**Історія досліджень молекулярної організації біологічних мембран.** Мембрани відіграють основну роль як у структурній організації, так і у функціонуванні всіх клітин – прокариотичних і еукаріотичних, рослинних і тваринних, беруть опосередковану участь і в утворенні вірусів. Основною функцією мембран є відмежування клітин і органоїдів від оточуючого їх середовища. Мембрани підтримують клітину у нерівноважному стані, а вільна енергія, що запасється завдяки мембранам у клітині чи в органоїдах, витрачається на виконання життєво важливих функцій – від генерації та розповсюдження нервового імпульсу до біохімічного синтезу і виконання механічної роботи. Клітинні мембрани виконують функції, які пов'язані з міжклітинними контактами і взаємодіями, передають інформацію за допомогою конформаційних змін мембранних компонентів, каталізують трансмембранні реакції, утворюють мультиферментні комплекси у площині мембрани, чим підвищується ефективність усього процесу. За прямою чи опосередкованою участю мембран відбуваються всі клітинні функції, наприклад, відбуваються такі різні процеси, як реплікація ДНК прокариот, біосинтез, процесинг і секреція білків, біоенергетичні процеси і функціонування систем гормональної відповіді.

Розміщуючись на межі розподілу фаз, плазматична мембрана слугує бар'єром, який відділяє вміст клітини від зовнішнього середовища. Але такі бар'єри не є абсолютними і забезпечують вибірковий транспорт різних речовин та іонів, необхідних для функціонування клітини, і вихід продуктів метаболізму. Плазматична мембрана першою зустрічає екзогенні речовини, взаємодіє з ними, класифікує їх і трансформує їхню хімічну енергію в енергію клітинного збудження. Оскільки більшість ферментів зв'язані з мембранами, то всі біохімічні процеси відбуваються за прямої чи опосередкованої участі мембран.

Таким чином, мембрани, відіграючи основну роль у потоках речовин, енергії та

інформації, залучені у всі без винятку процеси життєдіяльності клітини. Усі ці різноманітні вияви біологічної активності, які забезпечують стабільність клітинних функцій, об'єднуються терміном «матриксна функція клітинних мембран».

По мірі розвитку біології як прогресуючого комплексу наук про живе, визначальна роль мембран у життєдіяльності клітини, як і матриксна функція мембран, стають беззаперечними. Плазматична мембрана завдяки особливостям своєї будови є не тільки обов'язковою для будь-якої рослинної, тваринної чи бактеріальної клітини, але й структурою, що визначає рівень їх функціонування.

Вихідна концепція мембрани як структури чи поверхні, що відокремлює внутрішнє середовище клітини від її оточення, є наслідком узагальнення клітинної теорії Т. Шванна. Клітина як структурна одиниця тканини має бути обмежена шаром, який зберігає свою стабільність і запобігає її злиттю з сусідніми клітинами. Історія розвитку концепції клітинної мембрани базується найперше на дослідженнях рослинних клітин, оскільки вони набагато легше піддаються мікроскопічним дослідженням. Як зазначає Х. Сміт [34], опис Х. фон Молема протопласта на підставі досліджень М. Шлейдена (1842–1843 рр.) і К. фон Негелі (1850–1855 рр.) як «мішка» (Schlauch) передбачало наявність у клітини поверхневого шару, відмінного за структурою від її внутрішньоклітинного вмісту.

Дослідження К. Негелі [28] дали остаточну концепцію «приграничного шару», який відокремлює протоплазму від целюлозної оболонки рослинної клітини. К. Негелі, а пізніше В. Пфеффер [4], дали цьому шару назву «плазматична мембрана» (plasmatische Membrane). К. Негелі показав здатність протоплазми відновлювати себе після механічної травми, В. Пфеффер пояснив явище плазмолізу вибірковою проникністю мембрани, що остаточно було доведено Е. Овертоном [29].

Для розуміння мембрани як клітинної структури багато зробив В. Пфеффер, видавши свою книгу «Pflanzenphysiologie», в якій він описує механізми адсорбції і транслокації сполук та іонів, діалізні властивості клітини, плазматичні мембрани, введення і видалення твердих тіл, кількісну селективність тощо. Автор описує [31] плазматичну мембрану як «живий і залежний орган (клітини), за допомогою якого протопласт регулює спілкування (клітини) із зовнішнім світом і, отже, плазматичні мембрани різних рослин мають певні специфічні відмінності й особливості. Речовина може поєднуватися з плазматичними елементами, передаватися усередину клітини і знову вивільнюватися». Так, В. Пфеффер ще наприкінці позаминулого століття наділив плазматичну мембрану властивостями вибіркової дифузії (на той час – це діаліз), наявністю мембранних переносників і активного транспорту речовин та іонів. Хоч В. Пфеффер мав сумніви щодо ролі ліпідів у функціях мембран, він все ж таки визнавав: «Е.

Овертон прийшов до висновку, що холестерол або ефір холестеролу просочує плазматичні мембрани і в основному визначає їхні діалізні (тепер дифузійні) властивості та їхню проникність» [16, 31].

Що стосується тваринних клітин, то доцільно звернутися до однієї із перших праць на цю тему [21]. Автор цієї статті Х. Гамбургер у своїх дослідженнях використовує ті ж принципи, які використовував Х. де Фріз при вивченні осмотичного тиску і Е. Овертон – при дослідженні плазмолізу [29]. Він встановлює явище «зсув Гамбургера» – зміни концентрацій хлориду і бікарбонату в еритроциті відбуваються зі зміною тиску  $\text{CO}_2$ . Результати цих дослідів, як і дослідження В. Оствальда [30] і Х. Коеппе [25], стали основою для майбутніх досліджень проникності еритроцитів до аніонів [16, 17]. Ранніми дослідженнями кінця позаминулого століття показано, що селективність проникнення мембрани залежить від коефіцієнта розчинності речовини в жирах і кількості ОН-груп у багатоатомних спиртах [22]. У ці ж роки дослідження біоелектрогенезу розпочав і В.Ю. Чаговець [11], пізніше – І. Бернштейн [13]. Такі ранні мембранологічні дослідження суперечили дослідженням авторитетних учених М. Фішера і Р. Хобера [18, 24], висновком яких було: «Нема мембрани навколо клітини» і що електропровідність вмісту клітини пояснюється на основі колоїдної конституції протоплазми.

І все ж на межі XIX та XX століть існування мембрани як клітинної структури стає загальноприйнятим. Розпочинаються теоретичні й експериментальні роботи з вивчення їхнього хімічного складу і молекулярної організації.

Історія вчення про хімічний склад мембрани розпочинається не з біологічних, а з хімічних досліджень взаємодії олії (ліпідів) з водою [12]. Першим, хто описав взаємодію олії з водою, був Pling Elder, який у своїй енциклопедичній праці «Історія природи» (Natural History) відмічав, що олія робить морську воду слизькою. Першим, хто вивчав цей феномен, був письменник і філософ Б. Франклін, який у 1774 р. розглядав плівки олії на поверхні води, а трохи більше століття потому його експерименти повторив Lord Raleigh. Він вимірював площу плівки на воді відомого об'єму олії та знаходив товщину плівок з олії. Опублікувавши свої спостереження у 1890 р., він через рік отримує листа від німкені Agnes Poskels про проведенні нею спостереження над олійними плівками на розробленому нею пристрої (аналогічний пристрій пізніше був названий кюветою Ленгмюра).

Інший напрям досліджень, який також привів до встановлення існування плазматичної мембрани, – це дослідження на м'язах і нервах. Подразнювальна дія електрики на живі організми відома давно. Згідно з переказами і вказівками Скрібонія Ларго, Плінія, Діоскоріна й інших античних мислителів, відомо, що для лікування головних болів, паралічів, подагри, епілепсії та інших захворювань у давнину суто емпірично використовували удари електричних

риб [9]. Від чого видужували хворі при такому лікуванні, – сказати важко. Про сутність електричних явищ антична наука не мала жодного уявлення. Взаємозв'язок між живим організмом і електричними явищами в ті часи було встановлено лише емпірично.

Перше ґрунтовне експериментальне дослідження електричних і магнітних явищ належить англійському лікареві-фізику Вільяму Гільберту (1544–1603 рр.) [4]. Вчений довів, що здатність притягувати (електризувати) предмети притаманна не тільки бурштину, але й іншим матеріалам – алмазу, сапфіру, аметисту, гірському кришталю, смолі, сірці, сланцю та ін. Віддаючи належне бурштину – першому матеріалу, на якому спостерігалася електризація, він називає його електричним, поклавши в основу грецьку назву бурштину – електрон.

Систематичні досліді з вивчення впливу електрики на живі організми беруть початок ще в 1740 р. Виходить низка робіт, які намагаються підсумувати накопичені матеріали та систематизувати їх. У 1743 р. Гаузен [9] уперше висловив думку, що джерелом нервової сили є електрика. М.В. Ломоносов у своїй дисертації «Теория электричества, математическим способом разработанная автором М. Ломоносовым, 1756 год» [7] розглядає електрику як особливу форму руху, рішуче відмовившись від метафізичних термінів «флюїд», «невагома рідина» та ін. [1].

Першим, хто через півстоліття після Гаузена використав ефект електризації для дослідження атмосферної електрики, був Л. Гальвані, який, використовуючи для цього лапки жаб, відкрив особливий вид електрики – тваринну електрику. Таке відкриття давало можливість пояснити взаємодію нервової системи з різними органами живого організму. Хоча противником існування такої електрики був фізик А. Вольта, прогресивні біологічно-мембранологи того часу підтримали відкриття Л. Гальвані і довели, що утворення електрики живими організмами пов'язане з їхнім функціональним станом [2, 11, 13, 19, 27].

Через 50 років після відкриття Л. Гальвані існування «живої електрики» К. Маттеучі у 1842 р. повідомив про вторинне скорочення м'язів [10] і висловив припущення: м'яз другого препарату подразнюється струмом, який генерує перший м'яз. Через рік Е. Дюбуа-Раймон у своїй праці «Попередній нарис дослідження про так званий жаб'ячий струм і про електромоторних риб» висловив тверде переконання, що процес скорочення м'яза при подразненні нерва нервово-м'язового препарату пов'язаний з генерацією і розподілом по клітинах електричних струмів. Швидкість поширення цього не відомого на той час процесу була визначена Г. Гельмгольцом у 1850 р. [10]. Але механізм генерації та поширення процесу не знаходили свого пояснення протягом двох десятиріч. У цей же період були висловлені перші ідеї про існування поверхневої мембрани [16].

Перше правильне тлумачення проведення нервового збудження висловив Л. Герман у 1872 р. [23]: збудження нерва поширюється аналогічно проходженню електричного струму по кабелю. З цього виходить, що нервові волокна покриті оболонкою, яка погано проводить

електричний струм. Припущення Л. Германа підтвердив В. Оствальд у 1890 р. [10], показавши, що осадкові мембрани за деякими властивостями подібні до мембран клітин, з якими працював В. Пфедфер [31]. Оскільки ці мембрани по-різному пропускають неорганічні іони, В. Оствальд висловив припущення, що на мембранах може виникати різниця електричних потенціалів.

Та для того, щоб зрозуміти, як працюють клітинні мембрани, необхідно було знати їхній хімічний склад і молекулярну організацію. Приблизно в цей же час над дисертацією з ботаніки працював Е. Овертон, який мав знайти речовину, що швидко проникає у клітину. На підставі своїх досліджень він перший висловив припущення, що є схожість між мембраною і ліпідами (олією) і що певні молекули проникають у клітину, розчиняючись у ній, як у ліпідах [29]. На той час його ідею ніхто серйозно не сприймав. Що ж до моношарів, то їхню структуру описав І. Ленгмюр у 1917 р. [26]: молекули жирних кислот у моношарі карбоксильними групами занурені у воду, а гідрофобні хвости орієнтовані у повітря.

Таким чином, із можливих сполук, з яких побудована мембрана, розглядаються ліпіди, що формують однорідний шар [19]. Розглядаються і білки [31], оскільки мембрани, отримані з білків, мали деяку селективність до іонів. Класичним внеском у цю важливу проблему стали роботи Е. Гортера і Ф. Гренделя [19]. Вони екстрагували ліпіди із еритроцитів за допомогою ацетону, потім сухий залишок (після випаровування ацетону) розчиняли в бензолі й наносили на поверхню води в кюветі Ленгмюра. Вимірявши поверхню води, зайнятої ліпідами, і поверхню еритроцитів, вони прийшли до висновку, що плазматична мембрана є бімолекулярним ліпідним шаром. Ф. Грендель спробував визначити вклад у структуру мембрани різних ліпідів [20] і встановив співвідношення: лецитин (фосфатидилхолін) і кефалін – 50%, холестерол – 36% і сфінгомелін – 13%. Він же підрахував, що подвійний шар ліпідів має товщину близько 3,1 нм. Як зазначає Х. Давсон [16], ці, на той час унікальні, експерименти мали дві взаємовиключні помилки: автори виділили не всі ліпіди із еритроцитів, але не змогли точно виміряти площу еритроцитів (через їх дископодібну форму). Тому їх висновок про бімолекулярність мембрани був правильний, про що свідчать більш пізні аналогічні дослідження [10].

Важливими дослідженнями в цьому плані стали дослідження Х. Фріке. Приймавши значення діелектричної проникності за 3, він розрахував ємність плазматичної мембрани – 0,81 нФ/см<sup>2</sup>. На основі цих досліджень і досліджень Е. Гортера та Ф. Гренделя [19, 20] вибір молекулярної організації мембрани між моно- і бімолекулярним шаром схилився на користь останнього. Цьому сприяли теоретичні міркування, що бімолекулярний шар є більш стабільним порівняно з моношаром, який має тенденцію до перетворення на ліпідні міцели.

Зрозуміло, що модель Гортера і Гренделя не могла повністю забезпечити пояснення бар'єрних і транспортних процесів на мембранах. К. Коул, Дж. Даніеллі, Х. Давсон [15] та

інші дослідники [12] показали, що поверхневий натяг на поверхні клітини є значно нижчим, ніж це очікується за умови, що мембрана є бімолекулярним ліпідним шаром. Таке зниження поверхневого натягу на поверхні клітини могло бути наслідком локалізації білків у мембрані. Тому була запропонована «бутербродна» модель мембрани Данієллі-Давсона [15]. А вже через рік дослідження поверхневих властивостей білків на межі «олія – вода» Ф. Аск'ю і Дж. Данієллі показали [12], що глобулярне розташування білків на бімолекулярному шарі мало ймовірно, оскільки на таких поверхнях молекули білків розгортаються або денатурують. Така конфігурація молекул має більше шансів для утворення комплексу ліпід-білок, ніж перша модель мембрани Данієллі-Давсона (рис. 1). Така модель мембрани пояснювала отримані на той час експериментальні дані досліджень дифузії іонів і речовин. Що ж до їх активного транспорту Х. Давсон і Райнер для еритроцитів [17], Г. Коен і Дж. Моно для бактерій [14] припустили існування в мембрані «ферментоподібного фактора», що забезпечує транспорт у клітину специфічних субстратів.

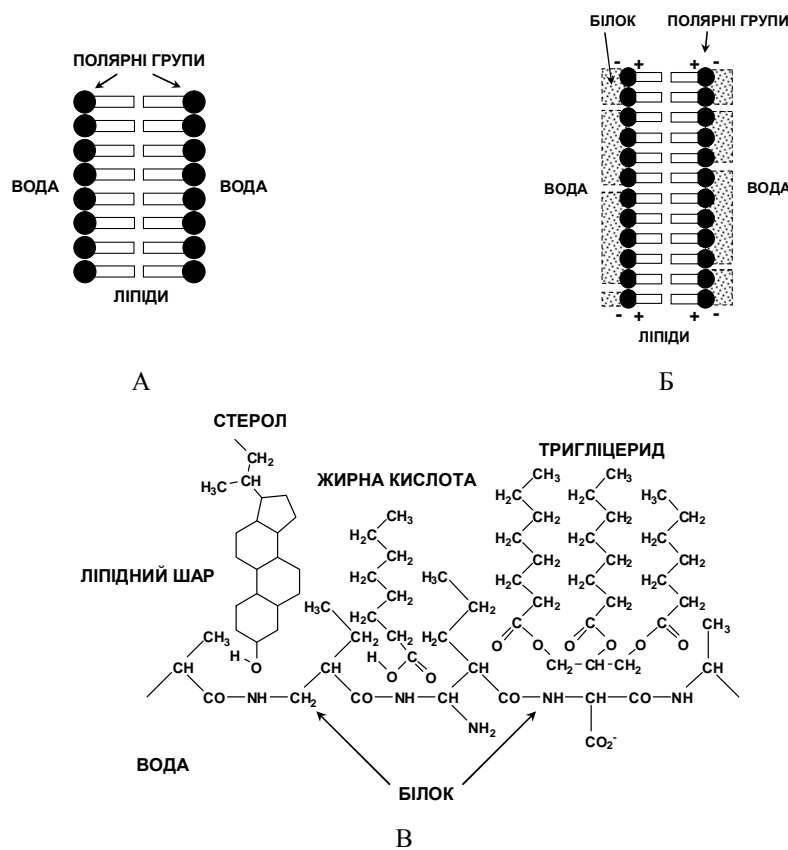


Рис. 1. Перші моделі плазматичної мембрани: А – бімолекулярний шар ліпідів [19]; Б – білок у мембрані в глобулярній формі [15]; В – білок у розгорнутій конфігурації [12].

Таким чином, закінчуючи короткий опис ранньої історії концепції плазматичної мембрани від введення терміну «плазматична мембрана» К. Негелі [28] і В. Пфедфером [31] до перших моделей її структури [12, 15, 16], можна зробити такі висновки: 1) до складу плазматичної мембрани входить бімолекулярний шар ліпідів, з яким зв'язані білки; 2) мембрана не тільки виконує бар'єрні функції, а й забезпечує дифузію, полегшену дифузію і активний транспорт речовин; 3) транспортні процеси через мембрани забезпечуються ліпідами, білками-переносниками і «ферментоподібними факторами». У останньому випадку кінетика транспорту може розглядатись як кінетика реакцій ферментативного каталізу. Тому, використовуючи кінетику Міхаеліса-Ментен і константи афінності, можна обчислити швидкість транспорту залежно від концентрації розчинених речовин.

**Молекулярна організація мембран.** Оскільки головними компонентами мембран є ліпіди і білки, вважається, що до мембран можуть бути застосовані загальні принципи термодинаміки макромолекулярних систем у водних розчинах [33]. Застосування цього принципу до мембранних систем базується на двох важливих типах нековалентних взаємодій – гідрофобних і гідрофільних. Перші є результатом відштовхування води ліпофільними групами молекул, унаслідок чого поблизу гідрофобних груп підсилюється квазікристалічний порядок у структурі води. У разі ж виштовхування гідрофобних груп із водного оточення збільшується приріст ентропії в системі та зменшення впорядкованості молекул води. При гідрофільних взаємодіях спостерігається більша спорідненість іонних і полярних груп до водневого оточення.

Окрім гідрофобних і гідрофільних взаємодій важливу роль у молекулярній організації мембран відіграють іонні взаємодії, водневі зв'язки і зв'язки через двовалентні метали. У останньому випадку важливими є іони Са, які можуть зв'язувати дві молекули фосфоліпідів чи молекулу ліпиду з молекулою білка [10]. Водневі зв'язки теж відіграють важливу роль в організації мембран, оскільки багато груп мембранних білків і ліпідів є донорами або акцепторами водню.

Застосування термодинамічного принципу мінімуму вільної енергії до моделей, які описують статичну структуру мембрани, потребує виконання щонайменше двох умов:

- 1) білки і ліпіди повинні так взаєморозміщуватися у мембрані, щоб максимально можлива кількість полярних груп перебувала в контакті з водою та іншими полярними групами;
- 2) неполярні вуглеводневі ланцюги ліпідів і амінокислот білків мають розміщуватися так, щоб максимально позбавлятися контактів з водою та з полярними групами ліпідів і білків [10, 33].

Як описано вище, вперше ідея про те, що основою мембрани є бімолекулярний шар



ліпідів, висловлена у 1925 р. [19]. Через 10 років після цього запропонована «бутербродна» модель мембрани [15], яка протягом кількох десятиліть була основою у розумінні структури і функції мембран.

Така мембрана утворена двома шарами білків із ліпідним бішаром між ними (рис. 2; 1). Пізніше, з метою узгодження моделі з відомими на той час фактами полегшеної дифузії через мембрану низькомолекулярних гідрофільних речовин, В. Стейн і Дж. Данієллі припустили існування в мембрані полярних білкових пор (рис. 2; 2). Завдяки прогресу в техніці приготування ультратонких зрізів тканин (1950–1960 рр.) для електронної мікроскопії стало відомо, що тришарова структура притаманна всім дослідженим на той час мембранам. Базуючись на цих морфологічних даних, Дж. Робертсон у 1959 р. [32] висловив концепцію унітарної мембрани (рис. 2; 3). Ця модель подібна до моделі Данієллі – Давсона, але в ній відображена ще одна важлива особливість мембрани – її асиметрія (на рисунку білкові шари зображені неоднаково). Основні закономірності, установлені Дж. Робертсоном, дали змогу переносити результати, отримані при дослідженні однієї мембранної системи, на інші мембранні системи з урахуванням їхніх специфічних особливостей.

Розвиток електронно-мікроскопічної техніки дав можливість "побачити" мембрану не як суцільну тришарову лінію, а як гранулярну структуру, яка має розриви (білкові пори) і ніби складається з окремих глобулярних частин. Ці дані викликали сумніви щодо моделі Робертсона і породили низку моделей, які відображали концепцію глобулярної організації мембран. Прикладами стали (рис. 2) модель Ф. Шестранда і Дж. Лаці, в яких мембрана уявлялась як чергування ліпідних міцел і білкових глобул, Д. Гріна і Дж. Пердью – модель мембрани мітохондрій із ліпопротеїнових субодиниць складної конфігурації, А. Бенсона – в якій вуглеводневі ланцюги ліпідів переплетені з поліпептидами й утримуються за рахунок гідрофобних взаємодій. У моделі Дж. Фінеана підкреслюється різниця в розподілі мембран і вперше зроблена спроба описати мембрану з урахуванням конкретних ліпідних молекул (фосфоліпідів і холестеролу). У середині 60-х років минулого століття А. Бенхем, вивчаючи роль фосфоліпідів у згортанні крові, встановив, що фосфоліпіди – основні компоненти клітинних мембран – здатні самовільно утворювати у воді замкнені структури. Ці пухирці, пізніше названі ліпосомами, стали адекватним об'єктом дослідження мембран, оскільки їм притаманні властивості напівпроникного бар'єра.

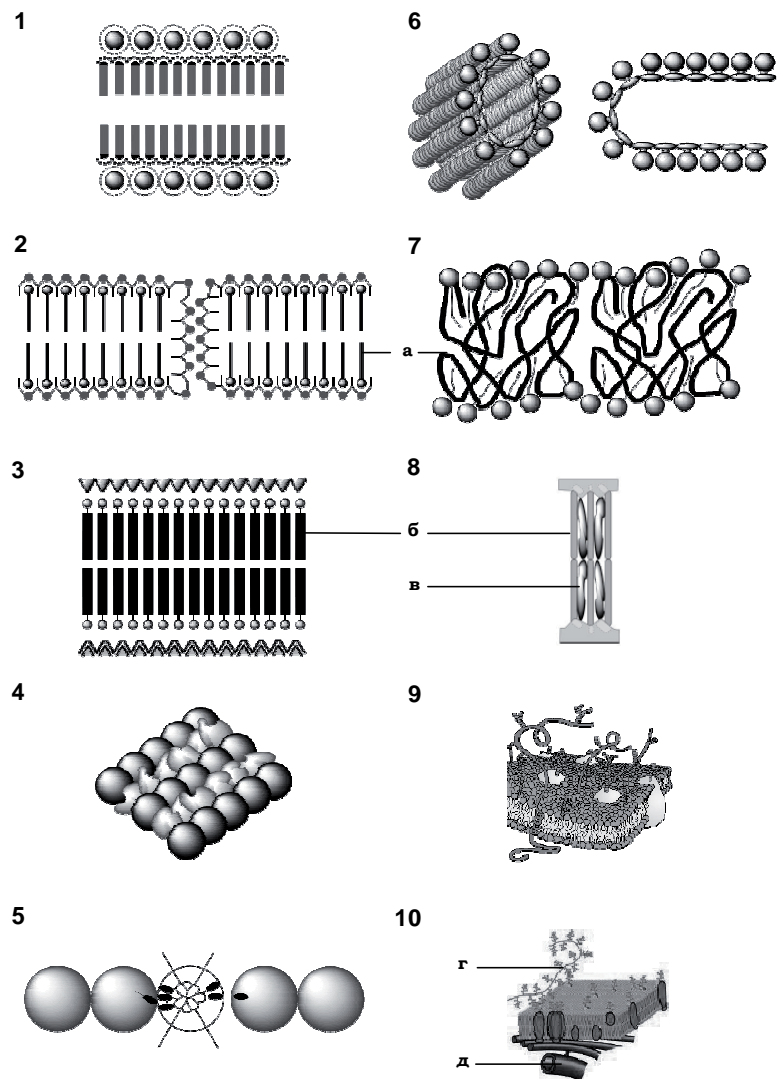


Рис. 2. Моделі структури біологічних мембран: 1 – Данієллі – Давсона; 2 – Стейна – Данієллі; 3 – Робертсона; 4 – Лаці; 5 – Шестранда; 6 – Гріна і Пердью; 7 – Бенсона; 8 – Фінеана; 9 – Сінджера – Ніколсона (рідинно-мозаїчна); 10 – рідинно-мозаїчна модель з урахуванням зв'язку мембран із цитоскелетом та з глікокаліксом; а – білки, б – ліпіди, в – холестерол, г – глікокалікс, д – цитоскелет.

Завдяки розробці методу "заморожування-сколювання", заснованого на розколюванні швидкозаморожених мембран по їхній гідрофобній ділянці, вдалося "побачити" внутрішньомембранні частки. Метод електрофорезу в поліакриламідному гелі в присутності аніонного детергента додецилсульфату натрію [3] дав можливість установити широкий набір мембранних білків. А відкриття фазового поліморфізму водно-ліпідних систем і рідинно-кристалічного стану ліпідів при фізіологічних температурах, концепція плинності ліпідного

бішару, вимірювання швидкості латеральної дифузії в мембранах [3] стали підставою для С. Сінджера і Г. Ніколсона запропонувати принципово нову модель молекулярної організації мембран [33], яка дістала назву *рідинно-мозаїчної моделі* (рис. 2). Основними постулатами такої мембрани є:

- мембрана – це "море" ліпідів, у якому плавають окремі білки;
- мембранних білків є два типи: периферичні (зв'язані з мембраною за рахунок полярних та іонних взаємодій) та інтегральні (пронизують ліпідний бішар і взаємодіють з ліпідами своїми гідрофобними ділянками);
- молекули компонентів мембран перебувають у постійному латеральному русі тощо.

На рис. 2. (10) показано рідинно-мозаїчну модель плазматичної мембрани з урахуванням зв'язку її структурних компонентів із цитоскелетом і глікокаліксом.

Останніми роками рідинно-мозаїчна модель молекулярної організації мембран також підлягає модифікації, і цей процес буде тривати. Зокрема, стало зрозумілим, що не всі мембранні білки вільно дифундують у рідкому ліпідному бішарі, що у мембрані існують латеральні домени, що деякі ділянки мембрани відрізняються за своєю організацією від класичного ліпідного бішару, що існують дефекти в ліпідному бішарі, у т. ч. ліпідні пори, що ліпіди в мембрані рухаються не тільки горизонтально, а й вертикально до площини мембрани тощо. Та все ж таки рідинно-мозаїчна модель у її різних модифікаціях залишається як концептуальна основа для більшості мембранних досліджень.

#### Ключові дати досліджень у мембранології (до 80-тих років XX століття) [35]

1743	Х. Гаузен (С. Hausen) висловив думку про те, що джерелом нервової сили є електрика.
1774	Б. Франклін (В. Franklin) досліджував розподіл олії на поверхні води.
1797	Л. Гальвані (L. Galvani) відкрив існування «тваринної» електрики і опублікував «Трактат про сили електрики при м'язовому русі».
1837– 1850	К. Маттеуччі (С. Matteucci) відкрив вторинне скорочення м'яза, яке Е. Дюбуа-Реймон (E. Du Bois-Reimond) зв'язав з генерацією і поширенням по клітинах електричного струму. Швидкість його поширення виміряв Г. Гельмгольц (H. Helmholtz).
1851	Х. Моль (H. Mohl) описав плазмоліз і припустив, що клітинні стінки функціонують як мембрани.
1855	К. Негелі (С. Naegeli) і К. Крамер (С. Cramer) описують приграничний шар клітини (мембрану) як напівпроникний бар'єр, що забезпечує осмотичні процеси у клітинах рослин.

	А. Фік (A. Fick) встановив феноменологічні закони дифузії.
1850– 1940	Теорії виникнення збудження. 1850 – теорія периполярних (електромоторних) молекул Е. Дюбуа-Реймона; 1896 – конденсаторна теорія В. Чаговця; 1899 – теорія Нернста; 1928 – колоїдна теорія Бейліса-Гельбруна; 1940 – теорія паранекрозу Насонова і Александрова.
1870– 1879	Дві теорії «тваринної електрики»: К. Маттеучі (C. Matteucci) та Е. Дюбуа-Реймона (E. Du Bois-Reimond) об'єднані у теорію «передіснування» електронегативності внутрішньої частини м'яза щодо до зовнішньої; Л. Герман (L. Herman) запропонував теорію альтерації, згідно з якою різниця потенціалів виникає в місці розрізу м'яза.
1877– 1890	В Пфеффер (W. Pfeffer) постулює існування клітинних мембран, базуючись на подібності між клітинами й осмометрами, які мають штучні напівпроникні мембрани (були приготовані раніше М. Траубе із осадкового фероціаніду міді). У 1890 р. ввів термін «плазматична мембрана» і описав її функції у книзі «Planzenphysiologie».
1885– 1890	Лорд Релей (LordRaleigh) і Агнес Поккельс (AgnesPockels) встановили площу і товщину плівки із конкретного об'єму олії. А. Покельс створила прилад, модифікація якого пізніше отримала назву «кювета Ленгмюра».
1887	С. Рінгер (S. Ringer) зробив перші вказівки на роль окремих іонів у генерації біоелектричних потенціалів; С. Арреніус запропонував теорію електrolітичної дисоціації.
1888	Х. де Фріз (H. deVries) припустив, що шар протоплазми між плазмалеомою і тонопластом функціонує як мембрана; описує проникність клітинної мембрани до аміаку і гліцерину. Ці дослідження стали фундаментом при створенні фізико-хімічних теорій осмотичного тиску Я. Вант-Гоффом і електrolітичної дисоціації С. Арреніусом.
1888– 1908	В. Нернст (W. Nernst) ввів рівняння для дифузійного потенціалу; розвиває теорію електричних потенціалів на основі дифузії іонів у розчині. Потенціал Нернста став основоположним при моделюванні потоків іонів через біологічні мембрани.
1895– 1902	Е. Овертон (E. Overton) розвиває ідеї про мембранні ліпіди, розподіл речовин у системі ліпід-вода. Обміну зовнішніх іонів $\text{Na}^+$ на внутрішньоклітинні іони $\text{K}^+$ .
1896– 1906	В. Чаговець (W. Chagovets) сформулював дифузійну іонну теорію біоелектрогенезу і конденсаторну теорію збудження.
1896– 1941	Теорії біоелектрогенезу: 1896 – дифузійна теорія В. Чаговця; 1912 – мембранна теорія Ю. Бернштейна; 1941 – сорбційна (фазова) теорія Д. Насонова, В. Александрова і А. Трошина.

1901	Е. Рейд (E. Reid) для вивчення трансепітеліального транспорту застосував спеціальну камеру з двома відсіками.
1902– 1912	Ю. Бернштейн (J. Bernstein) розробив мембранну теорію походження біоелектричних потенціалів.
1905	Р. Хобер (R. Hoyer) дослідив вплив електролітів на потенціал спокою м'язів жаби.
1906	Дж. Леб (J. Loeb) сформулював закон антагонізму між одно- і двовалентними іонами у процесах збудження.
1912	В. Правдич-Немінський (V. Pravdich-Neminsky) зареєстрував електроенцефалограму.
1917	І. Ленгмюр (I. Langmuir) досліджував поверхнево-активні речовини, визначив розміри багатьох молекул; запропонував кінетичну теорію адсорбції.
1920– 1930	Л. Міхаеліс (L. Michaelis) і К. Соллнер (K. Sollner) показали, що колодієвим мембранам притаманні властивості вибіркової проникності, чим започаткували дослідження штучних мембран.
1922	Р. Чемберс (R. Chambers) застосував методику мікроін'єкцій у клітину.
1925	Е. Гортер (E. Gorter) і Ф. Грендель (F. Grendel) запропонували модель бімолекулярної ліпідної мембрани. Х. Фріке (H. Fricke) визначив ємність такої мембрани ( $0,82 \text{ мкФ/см}^2$ ), що відповідає її товщині в 3,3 нм.
1926	Р. Хобер (R. Hoyer) встановив існування мембрани в еритроцитах.
1926– 1936	В. Остерхут (W. Osterhout, 1927) вимірював електричні потенціали у гігантських клітинах водорості <i>Nittella</i> з використанням металевого мікроелектрода. На тваринних клітинах аналогічні дослідження проводилися у 1936 р., коли Дж. Юнг (J. Young, 1936) ввів у практику фізіологічних досліджень препарат гігантського аксона кальмара (500-1000 мкм).
1930– 1940	Дж. Ерлангер (J. Erlanger), Г. Гассер (H. Gasser) і Д. Воронцов (D. Voronov) впровадили електронні підсилювачі та катодні осцилографи у практику досліджень мембранних електричних потенціалів.
1935	Дж. Даніеллі (J. Danielli) і Х. Давсон (H. Davson) запропонували «бутербродну» модель мембрани – бімолекулярний ліпідний шар, вкритий глобулярними білками.
1936	Дж. Като (J. Kato) отримав прямі докази необхідності іонів $\text{Na}^+$ для генерації нервового імпульсу на ізольованих нервових волокнах.
1939– 1940	А. Ходжкін (A. Hodgkin), А. Хакслі (A. Huxley), К. Колл (K. Cole), Х. Кертіс (H. Curtis) встановили, що збудження полягає не тільки у зниженні мембранного потенціалу спокою, а й у перезарядженні мембрани (овершут). К. Колл (K. Cole) і Г. Мармонт (G. Marmont) розробили метод фіксації потенціалу на мембрані.

1940– 1945	Дослідження П. Бойля (P. Boyle) і Е. Конвея (A. Conway) (іони $K^+$ в клітинах розподілені у відповідності з рівновагою Гіббса-Доннана), Р. Штейбаха (R. Steibach) (мембрани проникні для іонів $Na^+$ ) і концепція Р. Діна (R. Dean) про існування в клітині натрієвого насоса стали підґрунтям відкриття активного транспорту і сприяли становленню мембранної ензимології.
1943– 1949	Сформована теорія постійного поля Гольдмана (D. Goldman), перше положення якої використане А. Ходжкіним і Б. Катцом для виведення рівняння залежності калієвого, натрієвого і хлорного струмів від мембранного потенціалу й іонних проникностей мембрани (A. Hodgkin, B. Katz, 1949).
1949– 1955	Г. Лінг і Р. Джерард (G. Ling, R. Gerard, 1949), В. Настак і А. Ходжкін (W. Nastak, A. Hodgkin, 1950) і П. Костюк (P. Kostyuk, 1955) застосували мікроелектроди в дослідженнях мембранних електричних процесів, на основі яких сформульована мембранна теорія збудження.
1950– 1970	На принципах моделі Данієллі й Давсона розроблена низка моделей мембран: Робертсона (J. Robertson, 1954), Стейна-Данієллі (W. Stein, J. Danielli, 1956), Фінеана (J. Finean, 1962), Лаці (J. Lacy, 1964), Шостранда (F. Sjostrand, 1968) та ін.
1952	Дж. Паладе (J. Palade) опублікував мікрофотографії мембран мітохондрій із застосуванням електронних мікроскопів високої роздільної здатності й уперше описав кавеоли (вгинання плазматичної мембрани), які пізніше були віднесені до рафтів – спеціалізованих мембранних доменів.
1957– 1970	Відкриті й виділені мембранні АТФ-ази (J. Skou, 1957; J. Glynn, 1964; A. Weber, 1966; R. Albers, 1967 та ін.), ацетилхолінестерази (F. Bloom, R. Barnett, 1966; Д. Фердман і співавт., 1969 та ін.), аденілатциклази (E. Sutherland, T. Rall, 1960) та інші ферменти, що започаткувало мембранну ензимологію.
1961	П. Мітчел (P. Mitchell) сформулював хеміосмотичну теорію: градієнт протонів як джерело енергії для синтезу АТФ генерується внутрішньою мітохондріальною мембраною.
1961– 1962	П. Бакер (P. Bacer), Т. Шоу (T. Shaw), А. Ходжкін (A. Hodgkin) і І. Тасакі (I. Tasaki) впровадили в дослідження метод перфузії гігантського аксона кальмара.
1961– 1962	П. Мюллер (P. Mueller), Д. Рудін (D. Rudin), Х. Тьєн (H. Tien), В. Векот (W. Wescott) отримали біомолекулярну ліпідну мембрану (чорну ліпідну мембрану) як модель біологічної мембрани.
1965	А. Бенгхем (A. Bangham) описав утворення у водній фазі рідинно-кристалічних ліпідних структур, названих пізніше «ліпосоми».

1970	Л. Фрай, М. Едідін (L. Frye, M. Edidin) уперше продемонстрували латеральну плинність на поверхні клітин.
1972	С. Зінгер і Г. Ніколсон (S. Singer, G. Nicolson) запропонували рідинно-мозаїчну модель клітинної мембрани; перша спроба описати мембрану як «мозаїку» з областей проникних і непроникних для води була здійснена раніше (Натансон, 1904).
1975	П. Костюк (P. Kostyuk), О. Кришталь (O. Krishtal) і співроб. розробили метод внутрішньоклітинної перфузії соми нейронів.
1976	Е. Негер та І. Сакман (E. Neher, I. Sakmann) розробили patch-clamp методику фіксації напруги на мембрані (модифікація voltage-clamp technique - 1940), яка дала змогу виміряти активність одиничного іонного каналу.
1977	І. Баренхольц і співавт. (Y. Barenholz et.al.) запропонували використовувати ліпосоми як інструмент для вивчення властивостей біологічних мембран.
1978	Г. Ладигіна, А. Тенцова, О. Зізіна (H. Ladygina, A. Tentsova, O. Zizina) уперше ввели в ліпосоми білки і отримали протеоліпосоми.
1988	К. Сімонс (K. Simons) і співробітники встановили існування ліпідних рафтів у мембранах; один із їхніх типів – кавеоли – були відомі набагато раніше (C. Palade, 1953).
1992	В.Рибальченко (V. Rybalchenko) встановив ліпідний шлях взаємодії біорегуляторів з плазматичною мембраною.
1980–2000	Період модифікацій рідинно-мозаїчної моделі мембран. Одна із них – миготлива модель (В. Рибальченко, 2000) як тривимірна структура.

Виходячи з короткого огляду літератури, можна стверджувати, що у другій половині XIX століття дослідження мембран базувалися на описових методах, оскільки методів прямого дослідження структури і функції мембран не існувало. У той же час дослідження мембранологічного характеру осмотичних явищ на клітинному рівні, реєстрація електричних потенціалів, вторинного скорочення м'язів, осадових мембран (наприклад, осадових мембран Траубе із фероціаніду міді) послуговували фундаментом для створення фізико-хімічних теорій осмотичного тиску (Я. Вант-Гоффа) і електролітичної дисоціації електролітів (С. Арреніуса).

В останнє десятиріччя XIX століття за 100 років дослідження біоелектричних явищ, починаючи з досліджень Л. Гальвані (1791), твердо була встановлена низка основних електрофізіологічних факторів і зроблена спроба їх систематизації. Найважливішими в цьому плані були дві протилежні теоретичні концепції: електромолекулярна теорія Дюбуа-Реймона і альтераційна теорія Германа. За першою – поверхня клітини завжди має різнойменні заряди, за другою – клітина у спокої є електрично негативною.

За теорією Дюбуа-Реймона, м'яз побудований із електрорухливих периполярних

молекул, але існування цих молекул не мало ні теоретичних, ні експериментальних доказів. Такою ж бездоказовою була і спроба пояснити природу біоелектричних явищ, за теорією Германа, процесами обміну речовин. Такі «туманні» погляди на природу біоелектричних явищ відображали існуючі на той час у науці ідеї про природу електричних явищ взагалі. Тому і погляди цих науковців того часу на природу біоелектричних явищ відображали рівень загальної теорії електрики. І тільки зрідка висловлювалися здогадки, що подразнювальна дія електричного струму повинна бути пов'язана з появою біля полюсів електродів хімічних продуктів електролізу, які і мають діяти на живу протоплазму як збудники. Стан вивчення біоелектрогенезу сформулював І.М. Сеченов ще у 1862 р. в книзі «О животном электричестве»: «Проблема (електричного подразнення нерва) стає частково хімічною: вивчення електролізу нервових речовин стає істинною необхідністю». Однак стан науки на той час не дав можливості підійти ближче до вирішення важливого завдання.

Видатним відкриттям є створення теорії електролітичної дисоціації, яка стала фундаментом наукової електрохімії. Ця логічна фізико-хімічна концепція була розвинута безвідносно до біологічних об'єктів. Її використання для пояснень біоелектричних явищ представлялось самостійною і складною науковою задачею, яка потребувала тяжкої теоретичної та експериментальної роботи. Таку роботу судилося виконати вперше у світі українцеві Василю Юрійовичу Чаговцю.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Бабский Е. Б.* Василий Юрьевич Чаговец // Избранные труды в одном томе. К.: Изд-во АН Украины, 1957. Вып. 1. С. 5–42.
2. *Воронцов Д. С.* Развитие электрофизиологии на Украине // Физиол. журнал. АН УРСР. 1957. Т. 3. № 5. С. 29–35.
3. *Геннис Р.* Биомембраны. Молекулярная структура и функции. М.: Мир, 1997. 622 с.
4. *Гильберт В.* О магните, магнитных телах и большом магните – Земле. Новая физиология, доказанная множеством аргументов и опытов / пер. с латинского А. И. Доватура. М.: Изд-во АН СССР, 1956. 413 с.
5. *Лазарев П. П.* Ионная теория возбуждения. М.: Госиздат, 1923. 175 с.
6. *Лазарев П. П.* Сочинения : в 3-х т. М.: Изд-во АН СССР, 1950. 1808 с.
7. *Ломоносов М. В.* Слово о явлениях воздушных, от электрической силы происходящих // Ломоносов М.В. Полн. собр. соч. : в 10 т. М.;-Л.: Изд-во АН СССР, 1952. Т. 3. С. 15–99.
8. Развитие естествознания в России (XVIII – начало XX века) / под ред. С.Р. Микулинского и А.П. Юшкевича. М.: Наука, 1977. 535 с.
9. *Рибальченко В. К., Конопенець Н. І.* Жива електрика. К.: Рад. школа, 1990. 174 с.



10. *Рыбальченко В. К., Курский М. Д.* Молекулярная организация и ферментативная активность биологических мембран. К.: Наук. думка, 1977. 210 с.
11. *Чаговец В. Ю.* О применении теории диссоциации Аррениуса к электрическим явлениям на живых тканях // Журн. Русск. физико-хим. об-ва. 1896. Т. 28. Вып. 7. С. 657–663.
12. *Askew F. A., Danielli J. F.* Discussion on surface phenomena // Proc. R. Soc. Lond. A Math. Phys. Sci. 1936. Vol. 155. P. 695–696.
13. *Bernstein J.* Electrobiologie: Die Lehre von den elektrischen Vorgängen im Organismus auf moderner Grundlage, dargestellt. Berlin, 1912. 215 p.
14. *Cohen G. N., Monod J.* Bacterial permeases // Bacteriol. Rev. 1957. Vol. 21. P. 169–194.
15. *Danielli J. F., Davson H.* A contribution to the theory of permeability of thin films // J. Cell Comp. Physiol. 1935. Vol. 5. P. 495–508.
16. *Davson H.* Biological membranes as selective barriers to diffusion of molecules // Membrane transport: People and Ideas / edited by Tosteson D.C. Bethesda, Md. American Physiological Society. 1989. P. 15–50.
17. *Davson H., Reiner J. M.* Ionic permeability: an enzyme-like factor concerned in the migration of sodium through the cat erythrocyte membrane // J. Cell Comp. Physiol. 1942. Vol. 20. P. 325–342.
18. *Fischer M. N.* Oedema and Nephritis. New York: Wilev, 1921.
19. *Gorter E., Grendel F.* On bimolecular layers of lipoids on the chromocytes of the blood // J. Exp. Med. 1925. Vol. 41. P. 439–443.
20. *Grendel F.* Über die Lipoidschicht der Chromocyten beim Schaf // Biochem. 1929. Z.214. P. 231–241.
21. *Hamburger H. J.* Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften. Wiesbaden, Germany: Bergmann, 1902. Vol. 1.
22. *Hedin S. G.* Über die Permeabilität der Blutkörperchen // Pfluegers Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere. 1897. Vol. 68. P. 229–338.
23. *Hermann L.* Ueber eine Wirkung galvanischer Ströme auf Muskeln und Nerven // Pflug. Arch. Ges. Physiol. 1872. Vol. 6. P. 312–3600.
24. *Hober R.* The permeability of red blood corpuscles to organic anions // J. Cell. Comp. Physiol. 1936. Vol. 7. P. 367–391.
25. *Koeppel H.* Der osmotische Druck als Ursache des Stoffaustausches zwischen rothen Blutkörperchen und Salzlösungen // Pfluegers Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere. 1897. Vol. 67. P. 189–206.
26. *Langmuir I.* The constitution and fundamental properties of solids and liquids. Liquids // J. Amer. Chem. Soc. 1917. Vol. 39. P. 1948–1906.
27. *Ludeking M.* Leitungsfähigkeit gelatinhaltigen Zinkvitriollösungen // Wied. Annal. 1899. Bd.

37. P. 172–176.
28. *Nageli C., Cramer C.* Pflanzenphysiologie Untersuchungen. - Zurich, Switzerland: Schultess, 1855. Pt. 1: [Quoted by Smith (63)]. (цит. по : Рыбальченко В.К., Курский М.Д. Молекулярная организация и ферментативная активность биологических мембран. К.: Наук. думка, 1977. 210 с.)
29. *Overton E.* Studien über die Aufnahme der Anikinfarben durch die lebende Zelle // *Jahro. Wiss. Botanic.* 1900. 34. P. 669–701.
30. *Ostwald W. Z.* *Physiol. Chem.* 1895. 17. P. 189. (цит. по : Рыбальченко В.К., Курский М.Д. Молекулярная организация и ферментативная активность биологических мембран. К.: Наук. думка, 1977. 210 с.).
31. *Pfeffer W.* Pflanzenphysiologie. Leipzig, Germany: Engelmann, 1890.
32. *Robertson J. D.* Unit membranes: A review with recent new studies of experimental alterations and a new subunit structure in synaptic membranes // In: Locke M. (Ed.), *Cellular Membranes in development.* Acad. Press., NY. 1964. P. 1–81.
33. *Singer S. J., Nicolson G. L.* The fluid mosaic model of the structure of cell membranes // *Sci.* 1972. Vol. 175. P. 720–731.
34. *Smith H. W.* The plasma membrane, with notes on the history of botany // *Circulation.* 1962. Vol. 26. P. 987–1012.
35. *Tien H. T., Ottova-Leitmanova A.* Planar lipid bilayers (BLMs) and their applications. Elsevier Science B.V. Hlmghts reserved: Amsterdam, the Netherlands. 2003. 1035 p.

*Стаття: надійшла до редакції 03.06.14*

*доопрацьована 20.09.14*

*прийнята до друку 22.09.14*

## **HISTORICAL OVERVIEW OF BIOLOGICAL MEMBRANES RESEARCH**

**T. Rybalchenko, M. Dzerhynsky, S. Opanasenko, V. Rybalchenko**

*Taras Shevchenko National University of Kyiv*

*64/13, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine*

*e-mail: taras\_rybal@ukr.net*

Review provided a brief history of the development stages of biological membrane studies since early to mid twentieth century.

It was shown that V. Chagovets - Professor of Kyiv Taras Shevchenko University was the world's

first scientist who had formulated scientific study of bioelectric phenomenas.

Keywords: biological membranes, membrane models, main discoveries in membranology.

## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН: ИСТОРИЧЕСКИЙ ЭКСКУРС

**Т. Рыбальченко, Н. Держинский, С. Опанасенко, В. Рыбальченко**

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко*

*ул. Владимирская, 64/13, Киев 01601, Украина*

*e-mail: taras\_rybal@ukr.net*

В обзорной статье представлена краткая история этапов развития учения о биологических мембранах от начала до середины XX столетия. Показано, что первым в мире научное обоснование биоэлектрических явлений сформулировал В.Ю. Чаговец – профессор Киевского университета имени Тараса Шевченко.

*Ключевые слова:* биологические мембраны, модели мембран, основные открытия в мембранологии.