

С. А. БАДЖИНЯН

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА КЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТОВ

В работе рассматривается одно из важнейших свойств клеточных мембран—образование контактов между ними: их морфология, высокая проницаемость, природа сил, действующих между контактирующими поверхностями.

Контактные взаимодействия клеток играют важную роль в регуляции жизнедеятельности многоклеточной системы. Под контактными взаимодействиями подразумеваются изменения функционального состояния клеток, когда они приходят в тесный контакт друг с другом. Такое тесное расположение клеток имеется во многих тканях и, по существу, является «жизненным условием» для них. Естественно предположить, что поверхностные мембраны осуществляют взаимодействие между клетками или, по крайней мере, обеспечивают его какими-то другими структурами [1].

Морфология клеточных контактов. Морфологию клеточных контактов в различных тканях начали изучать уже давно—сначала методом световой, затем и электронной микроскопии [13—16], а также путем диспергирования тканей на клетки различными химическими агентами [25]. В последнее время стали применять сочетание обеих методик. Можно выделить разные варианты структуры в области контактов.

1. Мембраны соседних клеток по большей части поверхности оказываются разделенными щелью шириной 100—200 Å.

2. В некоторых случаях обращенные друг к другу участки поверхности клеток скрепляются с помощью взаимопроникновения складок или переплетающихся пальцеобразных выступов [19, 38]. Такие структуры очень распространены во многих органах. При удалении Са наблюдается раскручивание мембран на этих участках.

3. Зона замыкания, зона плотного контакта (*Zonula occludens*). В этой зоне межклеточное пространство исчезает. Вместо двух мембран соседних клеток, каждая из которых имеет трехслойное строение, появляется структура, состоящая из пяти слоев. Три темные полосы разделены двумя светлыми. Зона замыкания образует протяженное лентообразное сцепление, которое со всех сторон окружает клетку. В однослойных эпителиях она располагается в районе контакта, примыкающем к апикальной поверхности клетки; в многослойных эпителиях обнаруживается только у клеток наружных слоев [15, 20]. Таким образом, во всех случаях зона замыкания отграничивает межклеточное пространство от внешней среды. Она является барьером, предотвращающим диффузию веществ из межклеточного пространства во внешнюю среду.

В тех участках, где мембраны казались слившимися, при большом увеличении после окраски уранилом была найдена щель шириной в 15—40 Å [6]. Зона слипания (*Zonula adhaerens*) характеризуется наличием межклеточного пространства в 150—200 Å, которое заполнено гомогенным аморфным веществом низкой электронной плотности. Мембраны соседних клеток в этом участке контакта идут строго параллельно. Прилегающая цитоплазма уплотнена, в ней видны тонофибриллы, идущие параллельно клеточной мембране [14]. Зона слипания в большинстве эпителиев является протяженной структурой. Она так же, как и зона замыкания со всех сторон окружает клетку. При удалении Са в зоне слипания мембраны расходятся.

4. Десмосомой (*macula adhaerens*) называют локальную структуру, которая имеет в плоскости поверхности контактирующих клеток форму овала, примерные размеры которого 2000—6000 Å [34]. В пределах овала мембраны соседних клеток отстоят друг от друга на расстоянии 300 Å и расположены параллельно друг к другу. Между мембранами можно заметить несколько слоев значительной электронной плотности, расположенных параллельно мембранам [18, 35]. Во всех тканях десмосомы имеют одинаковый тип строения. В районе десмосом в цитоплазме контактирующих клеток на расстоянии 40—70 Å от плазматической мембраны располагаются диски, образованные плотным материалом. К дискам из цитоплазмы подходит пучок фибрилл, количество которых зависит от типа клеток. В контактах типа десмосом удаление Са ведет к разрушению их [15, 31].

5. Особый тип специализированных структур контакта—септированное сцепление или септированные десмосомы были обнаружены на контакте эпителиальных клеток беспозвоночных. Они были отмечены в эпителиях гидры [28, 37] и слюнной железы личинки дрозофилы [36].

Септированное сцепление расположено на апикальном конце контакта и занимает значительную часть поверхности его, подобно зонам замыкания, окружая клетку со всех сторон. На этом участке межклеточное пространство шириной 150 Å пересечено перегородками, связывающими внешние поверхности соседних клеток. Перегородки располагаются с интервалом в 100 Å и имеют толщину 50 Å.

Высокая проницаемость контактных мембран. Изменение проницаемости поверхности клеток происходит и при установлении контактов клеток друг с другом.

Впервые на слюнной железе личинки дрозофилы Канно и Левенштейн [22] показали, что между клетками существует низкоомная электрическая связь. Они определили электрическое сопротивление межклеточных контактов и свободной поверхности клеток в слюнной железе дрозофилы и обнаружили, что между ними существует различие не менее чем на два-три порядка. Низкое сопротивление контактирующих мембран в железистом эпителии означает, что мембраны практически проницаемы для многих веществ, т. е. что в подобного рода клеточных

ассоциациях обмен веществ между клетками протекает очень свободно, непосредственно через контактирующие поверхности.

Дальнейшие исследования Левенштейна и его сотрудников показали, что высокая проницаемость контактов клеток представляет собой довольно общее явление. Ими были исследованы клетки мальпигиевых канальцев почки, мочевого пузыря, чувствительного эпителия [23] и печени [27]. Во всех этих тканях была обнаружена более или менее хорошая связь между клетками.

Мальпигиевы канальцы — цилиндрические трубочки из одного слоя эпителиальных клеток, поэтому сопротивление мембран могло быть определено с большой точностью. Сопротивление неконтактной мембраны было не менее чем на два порядка выше. Такие же результаты были получены и на других тканях.

Фаркарр и Поладе [14] провели ряд опытов по выяснению проницаемости эпителия для некоторых высокомолекулярных веществ. Они воспользовались тем, что при искусственной гемоглобинурии гемоглобин концентрируется в почечных канальцах, образуя там плотную гомогенную массу, в экспериментальных случаях полностью заполняющую просвет канальцев. Тогда он может быть использован как метка при электронно-микроскопическом исследовании контактных комплексов между клетками эпителия, выстилающего эти канальцы. Во всех исследованных участках канальцев гемоглобин был обнаружен только до уровня плотного контакта.

Повышение проницаемости мембран на контактирующих поверхностях оказалось легкообратимым. При удалении из внешней среды ионов Ca^{++} электрическое сопротивление контактирующих мембран резко увеличивается и становится близким сопротивлению свободной поверхности [27, 29]. Оно растет также в гипертонических средах [24]. В последнее время показано, что электрическое сопротивление контакта мембраны растет при действии фермента гиалуронидазы на слюнную железу (*Chironomus plumosus*) [1].

Нужно отметить, что пока нет каких-либо серьезных доказательств в пользу того или иного типа контактных структур (из рассмотренных выше), определяющего удельное сопротивление контакта.

Гипотетические механизмы образования структур контактной мембраны. Так или иначе существование в области контакта низкоомных мембран твердо установлено для некоторых типов клеток. Вполне вероятно, что особые свойства контактных мембран просто возникают в результате тесного соприкосновения клеток, а не предсуществуют в отдельных клетках. Априори возможны три типа гипотез, объясняющих возникновение особых свойств мембраны в месте контакта. Эти свойства могут определяться химическим влиянием контактирующих клеток друг на друга; повышенной проводимостью и малой утечкой вдоль щели соприкосновения мембран, что может быть связано с теми или иными структурными элементами контактного комплекса; ионным составом внутрищелевой жидкости, зависящим от состава омывающего раствора.

Рассмотрим несколько подробнее принципиальные соображения третьего типа гипотез, наиболее простого и привлекательного. Основная идея этих гипотез состоит в том, что различия в ионном составе области контакта и окружающей среды определяются условиями диффузии в узких межклеточных щелях.

Вудбари [39] предположил, что вследствие медленной диффузии в межклеточной щели накапливается избыток ионов калия, выходящего из клеток. Это приводит к деполяризации контактной мембраны и в результате к повышению ее проницаемости. Не останавливаясь на разборе этой модели, изложим коротко другую, близкую гипотезу. Можно полагать, что высокая проницаемость контактных мембран обусловлена малой концентрацией кальция внутри щели. Уже то обстоятельство, что кальций, как известно, хорошо адсорбируется поверхностью клеток, и, попадая внутрь клетки, оказывается прочно химически связанным, может привести к пониженной концентрации его в области контакта вследствие медленной диффузии в узкую щель. Эта гипотеза может быть развита дальше на основе довольно простого и правдоподобного допущения. Известно, что в клетках содержится большое количество органических и неорганических анионов, дающих с кальцием весьма плохо растворимые осадки. К таким анионам можно отнести PO_4 , CO_3 , анион пальмитиновой кислоты, анион гиалуроновой кислоты и многие другие. Если принять, что клетки выделяют соединения, содержащие эти анионы, в наружную среду, то концентрация свободного Ca^{++} в узком пространстве межклеточной щели резко упадет в результате образования осадка. Вследствие притока Ca^{++} в щель из внешнего раствора концентрация его, по-видимому, окажется самой низкой в середине щели. По тем же причинам концентрация кальциевого осадка будет наибольшей по краям щели, где возможно даже образование своеобразных пробок из нерастворимых соединений кальция. Хорошо известно, что в отсутствие кальция резко увеличивается проницаемость и падает сопротивление многих мембран. Можно ожидать, что вследствие этого проводимость контактной мембраны существенно повысится и будет наибольшей в центре контакта. Было обнаружено [2, 3], что нерастворимые осадки катионов, сконцентрированные в узких порах, обладают высоким электрическим сопротивлением, избирательной проницаемостью по отношению к ряду катионов и анионов и выпрямляющими электрическими свойствами, т. е. ведут себя в некотором смысле аналогично клеточной мембране. Интересно, что проницаемость таких осадков для K^+ весьма высока, а для Ca очень мала. В силу таких свойств наличие осадков на краях щели должно было бы увеличивать сопротивление утечки и резко уменьшить поступление кальция внутрь щели. Вследствие избирательной проницаемости для K^+ на таких осадках возникает разность потенциалов, определяемая ионным концентрационным градиентом—аналог потенциала покоя клеточных мембран. Все эти свойства описанной модели, вероятно, могли бы обеспечить электрическую и функциональную связь, выявляемую на некоторых тканях в экспериментах. Модель эта хорошо

согласуется с работами [27], свидетельствующими о чрезвычайно важной роли кальция в образовании и поддержании клеточных контактов.

Наглядно видно, что гипотеза, основанная на определяющей роли кальция в возникновении особенностей контактной мембраны, не противоречит «кальцевой» гипотезе Вудбари. Очевидно, что более полные модели такого типа должны учитывать распределение нескольких катионов и анионов. При конкретном расчете подобных систем возникают сложные задачи диффузии в узких пространствах, в частности диффузии с поглощением одной или нескольких диффундирующих частиц, а также задачи зависимости параметров мембраны от концентрации ионов и потенциала на ней. Понятно, что это в свою очередь требует ряда точных экспериментов на невозбудимых объектах. Не будем обсуждать упомянутые гипотезы о возникновении особенностей межклеточного контакта. Гипотеза о химическом взаимодействии контактирующих поверхностей априори очень вероятна, однако пока для нее не существует достаточно конкретных моделей, которые можно было бы подробно анализировать.

Природа физических сил, действующих между контактирующими поверхностями клеток. Представление о природе сил, определяющих сцепление поверхностей клеток, базируется на данных коллоидной химии о взаимодействии заряженных поверхностей в ионной среде [4].

Предполагается, что взаимодействие коллоидных частиц обуславливается силами отталкивания, связанными с наличием двойных электрических слоев. Так как при нормальных параметрах среды (рН и ионная сила) поверхностный заряд мембран всех клеток имеет отрицательный знак, то между поверхностями клеток при их сближении должны действовать силы электростатического отталкивания. Величина силы отталкивания зависит от расстояния между поверхностями, т. к. взаимодействие происходит в ионной среде и около каждой заряженной поверхности образуется диффузное облако противоионов, то они с расстоянием спадают по экспоненциальной закономерности. Кроме сил отталкивания, между двумя электрически заряженными слоями действуют еще силы притяжения. Из известных сил притяжения достаточной общностью обладают только лондоновские дисперсионные силы. Обычно считают, что силы Лондон-Ван-дер-Ваальса имеют очень малый радиус действия—порядка атомных размеров.

Полная энергия взаимодействия в двойных электрических слоях высчитывается посредством сложения кривых отталкивания и притяжения. Силы отталкивания на больших расстояниях убывают по закону, близкому к экспоненциальному, с эффективным радиусом действия порядка толщины двойного электрического слоя. Силы же притяжения преобладают на очень малых и на очень больших расстояниях.

Взаимодействия между клеточными поверхностями. Физическая теория взаимодействия двухслойных поверхностей была применена Кертисом для объяснения межклеточных контактов и адгезии [7—10]. Из взаимоотношений между силами притяжения и отталкивания следует,

что существуют два положения клеточных поверхностей, в которых силы притяжения преобладают над силами отталкивания: на расстоянии между поверхностями в 5—10 Å (первый минимум) и на расстоянии в 100—200 Å (второй минимум). При слипании клеток во втором минимуме прочность адгезии около 10^{-4} эрг/см². Эта адгезия неспецифична и легкообратима. В первом минимуме она характеризуется большой энергией взаимодействия (больше 10^{-2} эрг/см²). Разделение клеток в этом случае невозможно без разрыва плазмолеммы [11].

Первый минимум отделен от второго потенциальным барьером, созданным электростатическим отталкиванием. Петика [30] и Кёртис [8] рассчитали, что при реальных плотностях электрического заряда клеток преодолеть энергетический барьер отталкивания и установить контакт в первом минимуме могут лишь участки поверхности, имеющие радиус кривизны не более 0,1 м. Кёртис [8] считает, что адгезия клеток в первом минимуме может осуществляться в тех участках контакта, где межклеточное расстояние исчезает (зона замыкания, отдаленная зона плотного контакта). А на большей части клеточного контакта, где между клетками в электронный микроскоп видно расстояние в 100—200 Å, осуществляется слипание во втором минимуме. Этому виду адгезии Кёртис придает первостепенное значение при агрегации клеток. Действие двухвалентных ионов на адгезию эта гипотеза объясняет уменьшением электростатического отталкивания клеток.

Есть гипотезы, согласно которым межклеточные контакты осуществляются путем непосредственного химического взаимодействия поверхностей клеток. Следует отметить, что в настоящее время нельзя провести четкую грань между наружным слоем поверхности и межклеточным цементом. Правильнее ставить вопрос о том, возможно ли выделить вещество, участвующее в клеточном взаимодействии.

Впервые сообщение о выделении вещества контакта появилось в работе Москоны [26]. Он пришел к выводу, что вещество, ответственное за адгезию эмбриональных клеток цыпленка, имеет мукоидную природу. Однако Стейнберг [33], проверяя результаты опытов Москона, показал, что выделенное им вещество есть продукт распада части клеток — нуклеопротеид.

Существенные результаты были получены на губках [17, 21]. Диспергировав их в морской воде, лишенной Са и Mg, авторы указанных работ отделяли клетки от надосадочной жидкости тщательным центрифугированием суспензии. Затем сравнивалась скорость слипания диспергированных клеток губок в среде, в которую добавляли надосадочную жидкость. Результаты опытов показали, что при низкой температуре клетки не могут слипаться, если с их поверхности предварительно удалить некоторое вещество. Если это вещество, потерянное клетками в бескальциевом растворе, добавить в среду, то клетки слипаются и при низкой температуре. Анализ вещества контакта показал, что оно представляет собой белок, содержащий некоторое количество углеводов. Пред-

принимаются попытки выделения веществ контактов, специфичных для клеток высших животных.

Коман и Штейнберг [5, 32] предполагают, что сцепление клеток осуществляется благодаря кальциевым мостикам, связывающим анионные группы поверхностей соседних клеток.

Очевидно, при большинстве типов контактов кальций каким-то образом вступает в специфическое химическое взаимодействие с компонентами поверхности, участвующими в образовании контакта. Более точно определить характер такого взаимодействия пока невозможно.

Институт экспериментальной биологии
АН АрмССР

Поступило 13.VII 1972 г.

Ս. Ա. ԲԱԶԺԻՅԱՆ

ԲՋՋԱՅԻՆ ԿՈՆՏԱԿՏՆԵՐԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ ԵՎ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Բջիջների կոնտակտային փոխազդեցությունները կենսաբանական կարևոր նշանակություն ունեցող պրոբլեմներից է: Դրանք կապված են պինդցրտողի ու սեկրեցիայի հետ և մասնակցում են ներքջջային տարրեր թաղանթների ձևավորմանը: Հոդվածում ներկայացված են կոնտակտային կառուցվածքների զանազան տարրերակներ՝ միացման հատված, սերտ կոնտակտի հատված, դեմոստումա, միջնապատված դեմոստումա, որոնք հայտնաբերվել են շատ հյուսվածքներում:

Առաջին անգամ կենդանիների հայտնաբերած մակերեսային թաղանթների բարձր թափանցելիությունը ցույց է տվել, որ կոնտակտի հատվածի թաղանթները պրակտիկորեն թափանցելի են շատ նյութերի համար: Թաղանթների այդ մասում, կախված կոնտակտային ճեղքի չափերից, գործում են ինչպես ձգողական, այնպես էլ վանող ուժերը: Չզոզական և վանող ուժերի փոխազդեցությունների ուսումնասիրությունը ցույց է տալիս, որ գոյություն ունեն բջջային մակերեսների երկու վիճակներ, որոնց ժամանակ ձգողական ուժերը գերակշռում են վանող ուժերին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Божкова В. П., Бойцова Л. Ю., Ковалев С. А., Миттельман Л. А., Шилянская Э. Н. Мат-лы симпозиума по межклеточным взаимодействиям. Тбилиси, 1970.
2. Глаголева И. М., Ковалев С. А., Либерман Е. Н., Проневич Л. С., Топалы В. Е., Чайлахян Л. М. Мат-лы симпозиума по биофизике, Австрия, 1967.
3. Ковалев С. А., Либерман Е. А., Чайлахян Л. М. Биофизика, 11, 621, 1966.
4. Кройт Г. Р. Наука о коллоидах. М., 1955.
5. Coman D. Cancer Res, 20, 1202, 1960.
6. Cotran R. Karnowsky M. J. Cell. Biol. 37, 123, 1968.
7. Curtls A. Nature, 94 37, 1960.
8. Curtls A. Exp. Cell. Res. Suppl. 8, 107, 1961.
9. Curtls A. Biol. Rev. 37, 82, 1962.

10. *Curtis A.* Arch. Biol. 76, 209, 1965.
11. *Curtis A.* Sci. Prog. Oxf. 54, 61, 1966.
12. *Curtis A., Creaves M.* J. Embr. Expt. Morph. 13, 309, 1965.
13. *Elbers P.* Rec. Prog. Surface. Sci. 2, 443, 1964.
14. *Farguar M., Palade G.* J. Cell. Biol. 17, 375, 1963.
15. *Farguar M., Palade G.* J. Cell. Biol. 26, 263, 1965.
16. *Fawcett D.* Symp. on Plasma memder, 1105, 1962.
17. *Castle C., Calontl M.* Science, 151, 203, 1966.
18. *Hama K.* J. Bioph. Blochen. Cyc. 7, 557, 1960.
19. *Hays R., Singec B., Malamed S.* J. Cell. Biol. 25, 195, 1965.
20. *Hicks R.* J. Cell. Biol. 28, 21, 1966.
21. *Hymphreys T.* In Spec of cell surf. 1967.
22. *Loewenstein W., Kanno I.* Cell. Biol. 22, 565, 1964.
23. *Loewenstein W., Socolar S., Higashinos, Kanno I., Davidson,* Science, 149, 36, 81, 1965.
24. *Loewenstein W., Kanno I.* Nature, 203, 1248, 1966.
25. *Mateyko G., Kopac M.* Ann. N. Y. Acad. Sci. 105, 1963.
26. *Mascona A. A.* Proc. Nat. Acad. Sci 49, 742, 1963.
27. *Nakas M., Higeshino S., Loewenstein W.* Science 151, 89, 1966.
28. *Overton J. J.* Cell. Biol, 17, 661, 1963.
29. *Penn R., Loewenstein W.* J. Science, 151, 3706, 1966.;
30. *Pethica B.* Exp. Cell. Rec. 8, 123, 1961.
31. *Sedar A., Forte J. J.* Cell. Biol. 22, 175, 1964.
32. *Steinberg M.* Am. Naturalist, 92, 65, 1958.
33. *Steinberg M.* Proc. Nat. Acad. Sci. 48, 1577, 1962.
34. *Tamarin A., Sreebny L.* J. Cell. Biol. 18, 125, 1965.
35. *Tapp R. J.* Roy Micr. Soc., 81, 223, 1963.
36. *Wiener J., Spiro D., Loewenstein W. J.* Cell. Biol. 22, 587, 1964.
37. *Wood R. J.* Bioph. Bloch. 6, 343, 1959.
38. *Waddington C., Perry M., Odaka E.* Exp. Cell. Res. 23, 634, 1961.
39. *Woodbary W., Grill W.* Proc. Intern. Symp. Per. Press 129, 1961.