

## ЛИПОСОМЫ—МОДЕЛЬ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН И НОВЫЕ АСПЕКТЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

С. А. БАДЖИНЯН

Рассматриваются литературные и собственные данные, касающиеся новейших моделей биологических мембран—липосом, эффективно использующихся при изучении различных мембранных процессов, что раскрывает новые возможности и для исследования их механизмов при различных патологических состояниях.

*Ключевые слова:* липосомы, мембраны биологические

В настоящее время не вызывает сомнения, что клеточные мембраны являются структурной и функциональной основой ряда важнейших процессов, происходящих в клетке [3—5]. Исследование структуры и функции биологических мембран имеет фундаментальное, общеприкладное значение. Вместе с тем необходимо подчеркнуть особую актуальность таких работ для решения задач современной медицины. С исследованием биологических мембран непосредственно связано решение проблем тканевой несовместимости и пересадки органов. Особо следует подчеркнуть, что выяснение механизмов взаимодействия мембран с различными веществами создает принципиально новую основу для фармакологии [7].

Для изучения мембранных процессов на молекулярном уровне часто необходимо работать с изолированными мембранами определенного типа. Сравнивая свойства искусственных мембран со свойствами биологических, можно получить представление о строении и функции последних [6, 8].

В настоящее время наиболее совершенной моделью клеточных мембран являются бислоиные мембраны из естественных и синтетических фосфолипидов. Искусственные липидные бислоиные мембраны позволяют по-новому оценить существующие представления об организации и функционировании биологических мембран. К таким модельным системам относятся липосомы [12, 14].

Липосомы являются наиболее простой, удобной и перспективной моделью липидного бислоя, эффективно используемой для изучения различных мембранных процессов: диффузии, ионной проницаемости, связывания различных веществ с компонентами мембраны. Широкое применение этой модели для изучения биологических мембран связано с тем, что липосомы можно формировать из смеси липидов с заданным составом. Следовательно, они являются незаменимыми мо-

делями для изучения поведения различных липидов, входящих в состав нативных мембран [2, 14, 15].

Идея, положенная в основу этой модели, чрезвычайно проста. Уже давно известно, что липиды в большом количестве воды спонтанно набухают, образуя жидкокристаллические структуры [14]. Исследование этих жидких кристаллов с помощью рентгеновских лучей, электронных и оптических (поляризационных) микроскопов и другими физическими методами показало, что большая часть представляет собой замкнутые частицы сферической формы, состоящие из ряда concentрических бимолекулярных липидных слоев, разделенных водным пространством. Расстояние между слоями равно 15—20 Å. Толщина липидных слоев составляет в зависимости от природы липидов 65—75 Å, диаметр колеблется в пределах 1—7 мкм [14, 15]. Более простые структуры, замкнутые частицы в виде маленьких пузырьков, состоящие из одного бимолекулярного липидного слоя, размер которых может варьировать в зависимости от условий их получения, природы липидов и pH раствора, образуются, если в процессе набухания водно-липидную смесь подвергать действию ультразвука. Обычно получают пузырьки диаметром 250—300 Å, т. е. сходные по размеру с субклеточными частицами. Если соблюдать определенные технологические условия приготовления, можно получать липосомы различных размеров.

Наиболее привлекательное свойство липосом состоит в том, что они замкнуты. Поэтому липосомы можно «начинать» различными веществами и исследовать проницаемость бимолекулярных слоев для ионов и молекул. Для получения «начиненных» липосом процесс набухания липидов проводят не в чистой воде, а в растворе с «начинкой», захватываемой при этом липосомой. Например, если проводить мембранное набухание липидов в растворе глюкозы, а затем отмыть липосомы от незахваченной глюкозы и поместить их в раствор хлористого калия, то получают систему из двух растворов (глюкозы внутри липосом и хлористого калия — снаружи), разделенную липидной мембраной. Следя за изменением концентрации глюкозы и ионов калия во внутреннем и наружном растворе, можно количественно исследовать проницаемость липидной мембраны.

Для понимания структуры и функционирования мембран очень важно выяснение роли холестерина в клеточной мембране. В опытах, проведенных на однослойных липосомах, было получено большое количество данных, свидетельствующих о выполнении холестерином функции регулятора степени подвижности молекул в бислое и поддержании определенного состояния мембраны [24]. Выяснено также влияние холестерина на коэффициент проницаемости липидного бислоя для ионов калия, натрия, хлора и глюкозы, а также на электрические свойства бислоя.

Ценное качество липосом заключается также в том, что они могут быть использованы как модели для изучения действия многих лекарственных веществ, витаминов, гормонов, антибиотиков и т. д. Так, например, с их помощью были получены очень важные данные о действии

анестезирующих веществ на мембраны [23]. Исследования, проведенные методом магнитного резонанса, показали, что анестетики общего действия, например хлороформ, уже при ничтожно малых концентрациях уменьшают упорядоченность углеводородных цепей мембран [23].

Липосомы являются самой удобной из созданных в настоящее время моделей для изучения ионной проницаемости липидного бислоя. Получены данные об изменении ее уровня под влиянием фармакологических агентов [24]. Исследование таких систем, как липосомы, механизмов взаимодействия фармакологических агентов с мембраной дает возможность выявлять функцию локальных областей такого сложного гетерогенного объекта, как мембрана.

Круг исследований, в которых липосомы используются в качестве модели липидного бислоя мембраны, чрезвычайно широк. Применение липосом открывает широкие возможности для изучения структурных и функциональных взаимодействий между липидными и белковыми компонентами мембраны.

В нашей лаборатории липосомы использовали для исследования влияния липидного состава модельных мембран на структурную лабильность таких представителей класса липидов, как гликолипиды (ганглиозиды и цереброзиды) и простагландины ПГЕ<sub>1</sub>, которые в последнее время привлекают внимание мембранологов. Был использован метод флуоресцентных зондов, дающий возможность изучать интимные механизмы функционирования мембран. При обработке фосфолипидных липосом ганглиозидами и цереброзидами встраивание последних в липидный бислой приводило к значительной модификации мембран липосом. Наблюдалось изменение константы связывания анионного зонда 1-анилинонафталин-8-сульфоната (АНС<sup>-</sup>), что свидетельствует о конформационных изменениях поверхностных слоев мембраны (рис. 1). Анализ изменений квантового выхода зонда и максимума его флуоресценции показал, что под воздействием гликолипидов происходит увеличение жесткости и гидрофобности поверхностных слоев мембраны липосом. Применение нейтрального зонда пирена дало возможность изучить влияние гликолипидов на глубокие слои липидных мембран. Молекулы пирена дифундируют в мембране, сталкиваются, образуя эксимеры. Таким образом, отношение эксимеров к мономерам пирена дает информацию о скорости его диффузии в мембране, а следовательно, и о вязкости ее. Ганглиозиды и цереброзиды вызывают уменьшение подвижности пирена в глубоких слоях мембраны (рис. 2), что свидетельствует о повышении ее вязкости [9].

Изучение влияния простагландина Е<sub>1</sub> и простаглицина на модельную мембрану показало, что ПГЕ<sub>1</sub> и ПГУ<sub>2</sub>, так же как и гликолипиды, вызывают повышение жесткости мембранных структур. Поскольку вязкость мембран, по современным представлениям, играет важную роль в деятельности мембранного ферментативного ансамбля, то проведенные на липосомах исследования позволяют раскрыть биологическую роль гликолипидов и простаглицинов.

Применение липосом создает новые возможности и для изучения механизмов мембранных процессов, имеющих большое значение в патологии. Примером тому может служить изучение патогенеза ожоговой болезни, проведенное в нашей лаборатории. После нанесения

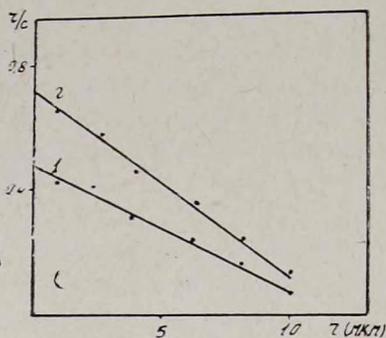


Рис. 1.

Рис. 1. Связывание АНС<sup>-</sup> с липосомами в отсутствие ганглиозидов (1) и при концентрации их  $2 \times 10^{-4}$  ммоль (2) (график Скетчарда).

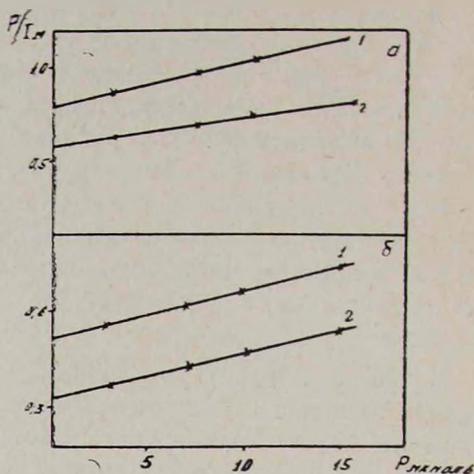


Рис. 2.

Рис. 2. Влияние гликолипидов на диффузию пирена в липосомах: а) 1—контроль, 2—цереброзиды; б) 1—контроль, 2—ганглиозиды.

ожоговой травмы [1] из различных органов крыс (мышцы сердца, легких) выделялись липиды, из которых формировались липосомы. Методом флуоресцентных зондов изучались некоторые параметры модельных мембран, в частности заряд липосом, вязкость липидного бислоя. Как показало исследование связывания зонда АНС<sup>-</sup> с липосомами, сформированными из фосфолипидов, выделенных из сердца крыс, концентрация центров связывания зондов повышается, что свидетельствует об уменьшении электроотрицательности мембран. С помощью пиренового зонда было обнаружено повышение вязкости мембранной структуры. Повышение вязкости и гидрофобности мембран, возможно, играет важную роль в патогенезе ожоговой болезни. Одновременно изучение липидной перекисидации при ожоговой болезни выявило повышение уровня липидных перекисей после воспроизведения ожоговой травмы, чем и объясняются регистрируемые изменения конформации бислоевых мембран.

Очень перспективны липосомы, созданные из липидов с белками. Прежде всего включение белков в липосомальную мембрану даст возможность моделировать поведение природных мембран в различных физиологических условиях. Например, опыты с липидно-белковыми липосомами позволили подойти по-новому к изучению некоторых аспектов иммунологических реакций. Как модель мембраны липосомы широко

применяются в иммунологических исследованиях для изучения взаимодействия между антигеном и антителом, реакции антителообразования, комплементзависимого иммунного повреждения липосом [22].

Что могут дать липосомы для практики? Как известно, в крови держатся ферменты, расщепляющие белки. Ферменты могут разрушаться прежде чем достигнут места своего назначения, но это можно предотвратить, если включить их в липосомы, которые защищают содержащиеся внутри них ферментные белки и таким образом могут значительно повысить эффективность ферментов. Поэтому липосомы можно использовать для доставки определенных ферментов или лекарственных препаратов в печень или костный мозг [18, 26]. Не исключено, что место доставки липосом может быть записано на их мембране, т. е. меняя липидный состав липосом, можно их направить не только в печень, но и в другие органы.

Исследования ряда авторов показали, что значительная часть липосом проникает через эпителий желудочно-кишечного тракта неповрежденной и оказывается в кровотоке [11, 16, 17].

Широкое применение липосомы получили в практической медицине. Химиотерапия опухолей— важная область применения липосом. Так, Грегориадис с сотр. [20, 21] вводил противоопухолевые соединения в липосомы, которые проникали в опухолевые клетки и эффективнее транспортировали активное вещество. Римап [25] использовала липосомы для лечения больных диабетом и некоторых заболеваний печени. Остером [23] они были применены при лечении некоторых сердечных заболеваний. Успешно применяют липосомы в кардиологических исследованиях Всесоюзного кардиологического научного центра Академии медицинских наук СССР в лаборатории В. П. Торчилина [10].

Использование липосом как капсул для лекарственных препаратов имеет ряд преимуществ перед другими микрокапсулами: они являются нейтральным материалом, который организм может легко утилизировать; состав их можно изменять в зависимости от поставленной задачи, что открывает новые возможности для более направленного введения лекарств в определенные органы и ткани.

Ереванский институт усовершенствования врачей  
Мишздрава СССР

Поступило 11.VIII 1980 г.

## ԼԻՊՈՍՈՄՆԵՐԸ ՈՐՊԵՍ ԲՋՋԱԹԱՂԱՆԹԻ ՄՈՒԵԼ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԿԻՐԱՌՄԱՆ ՆՈՐ ԱՍՊԵԿՏՆԵՐԸ

Մ. Ա. ԲԱԶԻՆՅԱՆ

*Քննարկվում են կենսաբանական թաղանթների նորագույն մոդելի—լիպոսոմների վերաբերյալ զրականության տվյալները և մեր ուսումնասիրության արդյունքները:*

*Լիպոսոմները արդյունավետ օգտագործվում են դանազան թաղանթային պրոցեսների ճետադոտման համար՝ իոնական թափանցելիություն, դանազան նյութերի կապվելը թաղանթների բաղադրամասերի հետ:*

1193

Հիպոտոմների օգտագործումը բաց է անում թաղանթային պրոցեսների մեխանիզմների հետազոտման նոր հնարավորություններ զանազան ախտաբանական վիճակների ժամանակ:

## LIPOSOMES AS A MODEL OF CELL MEMBRANE AND NEW ASPECTS OF THEIR APPLICATION

S. A. BADJINIAN

Literature and own data concerning new models of biological membrane — liposomes are considered. Liposomes are used effectively for study of different membrane processes, ionic permeability, binding of different substances with membrane components. The use of membranes gives new possibilities for the membrane process mechanism study of different pathological states.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агаджанов М. И., Баджинян С. А., Карагезян К. Г., Мхитарян В. Г. Докл. АН СССР, 244, 6, 1496, 1979.
2. Андриадзе Л. И., Штейн-Марголина В. А., Серебровская К. Б., Опарин А. И. Журн. эвол. биох. и физиол., 11, 4, 333, 1975.
3. Боровягин Б. Л. Цитология, 9, 505, 1967.
4. Бродский В. Я. Трофика клетки. М., 1966
5. Васильев Ю. М., Маленков А. Г. Клеточная поверхность и реакция клетки. Л., 1968.
6. Лев А. А., Бужинский Э. П. Цитология, 9, 102, 1967.
7. Лев А. А. Моделирование ионной избирательности клеточных мембран. Л., 1976.
8. Маркин В. С., Либерман Е. А. Докл. АН СССР, 201, 975, 1971.
9. Мхелян Э. Е., Секоян Э. С., Баджинян С. А., Соцкий О. П., Акопов С. Э. Биолог. ж. Армении, 31, 7, 758, 1978.
10. Торчилин В. П., Бан-Ан-Ко, Бердичевский В. Р., Локс В. Р., Смирнов В. Н., Хабер Э. Г., Чазов Е. И. Докл. АН СССР, 246, 3, 746, 1979.
11. Adams D., Joyce G., Ricardsen V., Ryman B., Wisniewski H. J. Neurol. Sci., 31, 173, 1977.
12. Bangham A. D., Hornel R. W. J. Mol. Biol., 8, 660, 1964.
13. Bangham A. D., Standish M. M., Miller N. Nature, 208, 1295, 1965.
14. Bangham A. D., Dawson R. H. J. Biochem., 75, 133, 1968.
15. Bangham A. D. Nort-Holland Publ. Lomp., 195, 206, 1970.
16. Bouma S., Dristante F., Hucstis W. J. Bioch. Chem., 272, 6759, 1977.
17. Deshmukh D., Bear W., Wisniewski H. Bioch. Bioph. Res. Comm., 82, 328, 1978.
18. Heath T. D., Edwards D., Ryman B. Bioch. Soc. Transc., 3, 129, 1977.
19. Huang R. T. Naturforsch., 32, 7, 656, 1977.
20. Gregoriadis G., Ryman B. Eur. J. Bioch., 24, 485, 1972.
21. Gregoriadis G. Nature, 265, 407, 1977.
22. Kinsky S., Haxby J., Zopf F. Biochem. (Wach.), 8, 4149, 1969.
24. Papahadjopoulos D. Bioch. Bioph. Acta., 265, 169, 1972.
25. Ryman B., Jemkes R., Jeyasing K., Osborne M. et al. Ann. New., Jork. Acad. Sci., 75, 282, 1978.
26. Tyrrel D., Richardson V., Ryman B. Bioch. et Bioph. Acta, 497, 469, 1977.