

Г. Х. Бабаева, М.А. Набиев, В.М. Ализаде, И.Б. Алиева*, Н.А. Мусаев*

Институт Ботаники НАН Азербайджана,
*Бакинский Государственный Университет, Азербайджан

МОДИФИКАЦИЯ ТРАНСПОРТНЫХ СВОЙСТВ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК ХАРОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ Cd^{2+}

Накоплен экспериментальный материал значительного объёма по влиянию тяжёлых металлов на клетки растений и её структурно-функциональные субъединицы. Проведённые исследования в этом плане, в основном, были направлены на анализ их токсических эффектов [1, 2]. Точные механизмы модификации транспортных свойств плазматической мембраны растительных клеток под влиянием ряда тяжёлых металлов остаются не установленными. К ним в первую очередь относятся катионы Cd^{2+} . Поэтому целью настоящей работы было установление возможных механизмов влияния Cd^{2+} на отдельные компоненты системы первичного активного транспорта плазматической мембраны растительных клеток на основе электрофизиологического анализа закономерностей изменения мембранного потенциала и сопротивления.

Объектами наших исследований служили интернодальные клетки харовых водорослей *Chara gymnohylla* и *Nitella flexilis*. Измерения мембранного сопротивления R_m и потенциала φ_m проводили с применением прецизионной микроэлектродной техники. Анализом кинетики изменения мембранного сопротивления и потенциала под влиянием повышенных концентраций K^+ были установлены диапазоны активации K^+ -каналов наружного и внутреннего выпрямления, которые составляли соответственно $-50 \div -160$ и $-160 \div -300$ мВ. Кратковременное воздействие Cd^{2+} на транспортные свойства плазматической мембраны *Chara gymnohylla* осуществлялось через внешнюю среду, путем включения катиона в состав фонового питательного раствора.

Минимальная концентрация Cd^{2+} , которая вызывала заметные изменения φ_m оказалась 10^{-8} М. Это свидетельствует о высокой степени чувствительности клеток *Chara gymnohylla* к действию катиона Cd^{2+} . Независимо от исходного уровня φ_m 82% исследуемых клеток на действие 10^{-8} М Cd^{2+} реагировали гиперполяризацией плазматической мембраны (рис.1).

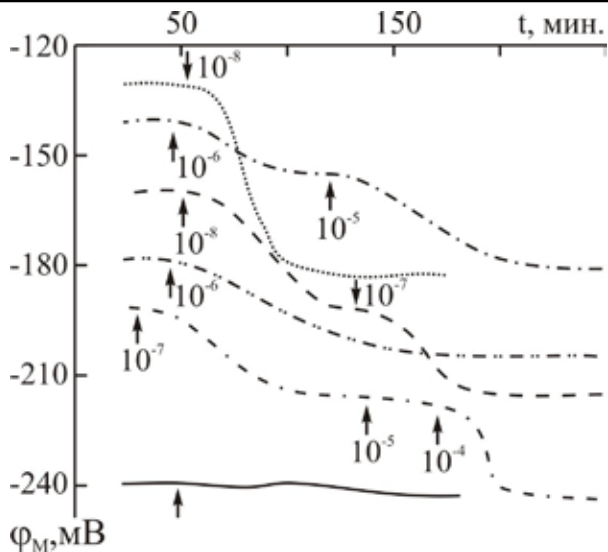


Рис.1. Гиперполяризация плазматической мембраны клеток *Chara gymnocphylla* при добавлении Cd^{2+} в состав питательной среды. Стрелками указаны моменты добавления соответствующих концентраций катиона в питательную среду.

Величина гиперполяризации зависела от исходного уровня мембранного потенциала клеток. Гиперполяризация плазмалеммы исследуемых клеток в присутствии 10^{-8} М Cd^{2+} развивалась в течение 40-100 минут, а ее величина у клеток, мембранный потенциал которых находился в диапазоне активации K^{+} -каналов наружного выпрямления, составляла $26,6 \pm 2,5$ мВ. Величина гиперполяризации клеток, φ составляла $26,6 \pm 2,8$ мВ. Гиперполяризация этих клеток под влиянием 10^{-8} М Cd^{2+} развивалась в течение 50-100 мин (рис. 1).

Введение в состав питательной среды 10^{-8} М Cd^{2+} у клеток, φ_m которых находились в диапазоне активации K^{+} -каналов наружного выпрямления, вызывало увеличение мембранного сопротивления на 25-75%. Установление R_m этих клеток на новом стационарном уровне происходило в течение 30-100 мин (рис.2). Аналогичная реакция биоэлектрических параметров клеток *Chara gymnocphylla* на введение в среду 10^{-7} - 10^{-5} М Cd^{2+} прослеживалась для всех клеток без исключения. Величина гиперполяризации у всех клеток при ступенчатом увеличении концентраций Cd^{2+} в среде возрастала таким образом, что мембранный потенциал достигал максимального значения, характерного для клеток *Chara gymnocphylla* ($-240 \div -250$ мВ). Гиперполяризация клеток с увеличением концентрации Cd^{2+} в среде сопровождалась увеличением мембранного сопротивления.

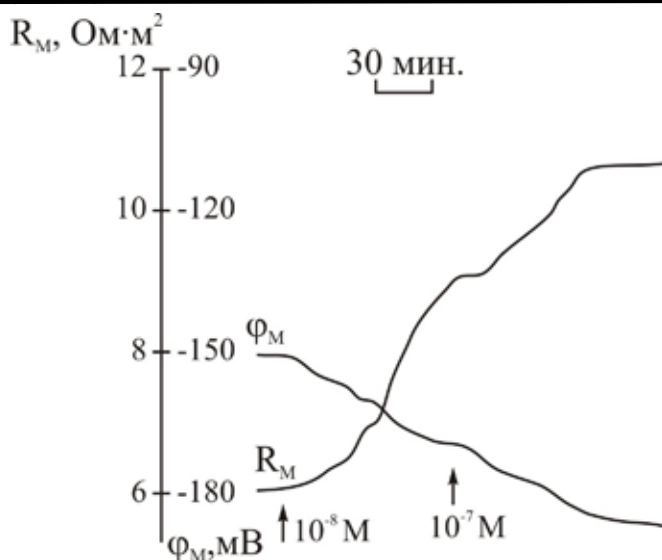


Рис. 2. Изменение мембранного потенциала ϕ_m и сопротивления R_m клеток *Chara guthrophylla* при добавлении Cd^{2+} в состав питательной среды. Стрелками указаны моменты включения соответствующих концентраций (моль/л) катиона в среду, окружающую исследуемую клетку.

Общий рост R_m плазматической мембраны клеток, ϕ_m которых находились в диапазоне активации K^+ -каналов наружного выпрямления, при ступенчатом увеличении концентрации катиона в среде с 10^{-8} до 10^{-5} М составлял 30-75%. Наоборот, у клеток, ϕ_m которых находились в диапазоне активации K^+ -каналов внутреннего выпрямления, увеличение концентрации Cd^{2+} в среде от 10^{-7} до 10^{-5} М вызывало двукратное уменьшение мембранного сопротивления на фоне прогрессирующей гиперполяризации плазматической мембраны.

Повышенные концентрации катиона в среде вызывали деполяризацию плазматической мембраны. Фаза деполяризации наступала при одной из концентраций катиона 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} М. Но появление в среде 10^{-3} М Cd^{2+} вызывало деполяризацию плазмалеммы всех клеток без исключения на 15-30 мВ. Деполяризация плазмалеммы под влиянием 10^{-5} или 10^{-4} М Cd^{2+} происходила только у клеток, предварительно обработанных малыми концентрациями катиона. Клетки, предварительно не обработанные малыми концентрациями Cd^{2+} , реагировали на введение 10^{-5} - 10^{-4} М концентраций катиона в среду только гиперполяризацией, величина которой у некоторых клеток достигала 40 мВ. Деполяризация клеток, ϕ_m которых находились в диапазоне активации K^+ -

каналов внутреннего выпрямления, под влиянием повышенных концентраций Cd^{2+} сопровождалась увеличением мембранного сопротивления, тогда как деполяризация клеток, Φ_m которых находились в диапазоне активации K^+ -каналов наружного выпрямления, происходила при постоянстве R_m .

Таким образом, можно видеть, что кратковременное воздействие Cd^{2+} в малых концентрациях вызывает стимулирующие влияние на транспортные процессы в плазматической мембране как Co^{2+} , так и Ni^{2+} [3,4]. В отличие от Co^{2+} и Ni^{2+} , действие повышенных концентраций Cd^{2+} вызывало токсические, повреждающие эффекты, выражающиеся в деполяризации плазматической мембраны и увеличении мембранного сопротивления.

Для идентификации токсического эффекта повышенных концентраций Cd^{2+} мы пытались дифференцировать интегральную проводимость плазматической мембраны на её составляющие. С этой целью в качестве тест - объекта исследования мы применили интернодальные клетки другого вида харовых водорослей *Nitella flexilis*. Клетки *Nitella flexilis* обладают тонкой клеточной оболочкой и являются удобным объектом для применения метода фиксации мембранного потенциала. Применение этого метода позволило следить за изменением проводимости плазматической мембраны в диапазонах активации K^+ -каналов наружного и внутреннего выпрямления в отдельности. Между данными, полученными на двух видах харовых водорослей с применением двух альтернативных методов, расхождения не обнаружено. На клетках обоих типов, 10^{-3} М Cd^{2+} вызвал повреждающее действие на ион-транспортную систему плазматической мембраны. На клетках *Nitella flexilis* 10^{-3} М Cd^{2+} вызвал уменьшение проводимости K^+ -каналов внутреннего выпрямления на 20%, K^+ -каналов наружного выпрямления - на 25% соответственно.

Подводя итоги рассмотрения биоэлектрических реакций клеток *Chara gymnophylla* на Cd^{2+} , можно выделить следующие их основные особенности: 1) независимо от исходного уровня мембранного потенциала, все клетки реагировали гиперполяризацией на относительно малые (10^{-8} - 10^{-5} М) и деполяризацией на более высокие (10^{-3} М) концентрации катиона; 2) гиперполяризация клеток, Φ_m которых находились в диапазоне активации K^+ -каналов наружного выпрямления, сопровождалась увеличением, а клеток, Φ_m которых находился в диапазоне активации K^+ -каналов внутреннего выпрямления, уменьшением мембранного сопротивления; 3) деполяризация клеток, Φ_m которых находились в диапазоне активации K^+ -каналов внутреннего выпрямления, под влиянием повышенных концентраций Cd^{2+} сопровождалась увеличением R_m , а у клеток, Φ_m которых находились в диапазоне активации K^+ -каналов наружного выпрямления происходила при постоянстве R_m .

Все эти явления – результат взаимодействия Cd^{2+} с ион-транспортной системой и, возможно, даже липидной фазой плазматической мембраны *Chara gymnophylla*.

При анализе этих событий необходимо учитывать последствия взаимодействия Cd^{2+} с ион-транспортной системой клеток. Сюда, в первую очередь, относится взаимодействие катиона с SH-группами мембранных ферментов, что может привести к изменению их функциональной активности [1,2]. Cd^{2+} способен связываться входными участками K^+ -каналов плазматической мембраны (5), которые являются основными компонентами ион-транспортной системы. Уместно упомянуть обнаруженное ранее изменение физического состояния мембранных липидов под влиянием Cd^{2+} [6, 7], что может отразиться на функциональном состоянии каналов пассивного транспорта и электрогенного насоса.

Известны данные и о прямом влиянии Cd^{2+} на функциональную активность H^+ -насосов плазмалеммы [8]. Вышеприведенные факты могут отразиться в изменениях Φ_m и R_m . Мы полагаем, что стимуляция электрогенной активности клеток *Chara gymnophylla* под влиянием малых концентраций Cd^{2+} (рис.1,2) происходит в результате изменения физического состояния мембранных липидов, тогда как при действии повышенных концентраций Cd^{2+} , доминирующим, по-видимому, является взаимодействие катиона с SH-группами мембранных белков, в частности, H^+ -помпы, что может привести к её инактивации и уменьшению Φ_m . Установленные факты свидетельствуют о том, что Cd^{2+} может служить модификатором транспортных свойств плазматической мембраны растительных клеток. Причем, малые концентрации катиона, по-видимому, стимулируют работу электрогенных насосов. Повышенные концентрации катиона оказывают ингибирующее влияние на мембранные процессы.

Использованная литература

1. Серегин И.В., Иванов В.Б.- Физиология растений, т.48, №4, с.606-630.
2. Серегин И.В., Шпигун Л.К., Иванов В.Б.–Физиология растений, 2005, т.58, с. 582-591.
3. Musayev N.A., Ismailov E. R. – Ecology, 2007, No 63, p. N.1-6
4. Musayev N.A., Zeynalova N. M., Nadiyev M.A. –Proseding of the ninth inter. congr. «Energy, Economy, ecology», 2007, 7 – 9 Yune, Baku, p.345-349
5. Бабаева Г. Х. Дисс. на соиск. канд. биол. наук .Баку, Институт Ботаники НАН Азербайджана 2009., 127 ст.
6. Godin D.V., Garntt M. – Journal membr.biology, 1976, v 28, p. 143-168.
7. Meharg A.A.- Physiol. Plant., 1993, v 88, p.193, 191-198.
8. Плеханов С. Е., Чемерис Ю.К. – Изв. АН Росс. серия биологическая, 2003, № 5, 610-616.