

ЭНТРОПИЙНЫЙ ХАРАКТЕР СДВИГОВОЙ УПРУГОСТИ ЖИВОЙ КЛЕТКИ (ЭРИТРОЦИТА)

С.Д. Захаров

Живая клетка (эритроцит) обладает упругостью, причем после приложения и снятия механической нагрузки деформации обратимы во времени. Для объяснения этих фактов предложена количественная модель мембранного комплекса с несколькими эластичными субкаркасами, формулируемая на основе подхода статистической физики полимерных клубковых структур.

Многие виды живых клеток под действием внешних сил деформируются обратимым образом, восстанавливая свою форму после снятия нагрузки /1/. В этом смысле обычно говорят об упругости клеток. Вместе с тем релаксация их формы, в отличие от твердых тел, происходит со скоростью, существенно меньшей скорости звука. Модули упругости и времена релаксации претерпевают изменения во время клеточного деления, установления межклеточных контактов, злокачественного перерождения и т. д. Способность к большим (до 300%) обратимым деформациям особенно важна для красных клеток крови – эритроцитов /2/. Эритроциты в кровеносных сосудах испытывают в основном сдвиговые напряжения /1/, а степень их деформируемости определяет эффективную вязкость текущей крови /2/.

Механизм сдвиговых деформации красной клетки обычно сводят к вязкоупругому течению клеточной мембраны, представляя ее в виде параллельного соединения гипотетических упругого и вязкого элементов с параметрами, рассчитываемыми из результатов опытов по наблюдению всасывания одиночных клеток в микроиголки /1/. Однако при трактовке подобных опытов трудно учесть эффекты контакта живой клетки с чужеродной поверхностью. Возможно поэтому данные /3/, полученные с помощью бесконтактной методики, существенно отличаются от опубликованных ранее (температурная зависимость деформации). Цель данного сообщения – рассмотреть, исходя из данных /3/, возможность объяснения релаксационных свойств эритроцита при сдвиговом воздействии путем применения к мембранному комплексу клетки статистической теории высокоэластичных полимерных структур /4-6/.

Мембранный комплекс эритроцита представляет собой собственно мембрану, весьма неоднородную по составу, с многочисленными включениями белковых молекул и молекулярных агрегатов, укрепленную с внутренней стороны сетчатой каркасной структурой. Основными элементами этой сети являются палочкообразные молекулы спектрина (длина молекулы 10^2 нм, общее количество на клетку $2,4 \cdot 10^5$). Спектриновая сеть связана с мембраной через "точки прикрепления", где локализованы определенные мембранные белки. Биологическая мембрана обладает значительной текучестью вдоль поверхности /7/. Поэтому белковые молекулы, в том числе и связанные с сетью, "плавают" по мембране, участвуя в диффузионном движении. В то же время эти белки не могут покинуть мембрану из-за сильного взаимодействия с окружающими их мембранными доменами. При механических возмущениях сеть деформируется и "точки прикрепления" дрейфуют, оставаясь на мембране и заставляя ее, в свою очередь, менять форму.

Не может ли между точками прикрепления существовать упругая связь в виде клубковых полимерных структур, которая и определяет общее упругое поведение эритроцита при сдвиговых деформациях? Для ответа на этот вопрос проанализируем результаты одноосного растяжения красных клеток как электрических диполей в неоднородном высокочастотном поле /3/. Согласно эксперименту, удлинение клетки ΔL при приложении к ней растягивающей силы $F \cong 2 \cdot 10^{-6}$ дин в виде ступенеобразной функции времени при $T = 30^\circ\text{C}$ описывается выражением

$$\Delta L(t) = A_0 - A_1 \exp(-t/\tau_1) - (A_0 - A_1) \exp(-t/\tau_2), \quad (1)$$

где $A_0 = 1$ мкм; $A_1 = 0,3$ мкм; $\tau_1 = 0,16$ с, $\tau_2 = 0,9$ с. Аналогично описывается сокращение длины после быстрого снятия нагрузки. Кроме того, в /3/ наблюдалась сильная зависимость L от T в диапазоне от 15 до 25 $^\circ\text{C}$. При 13 $^\circ\text{C}$ максимальная амплитуда была в 5 раз меньше ($A'_0 = 0,2$ мкм), чем при 30 $^\circ\text{C}$, однако при этом аппроксимации временного хода в виде (1) провести не удается. Наблюдаемый температурный эффект оказывается обратимым.

Выберем в качестве модели деформирующейся клетки полимерную высокоэластичную оболочку в форме эллипсоида вращения, представляющую собой текучую, несжимаемую и сохраняющую толщину основу с растворенными в ней цепными полимерными макромолекулами с клубковой конфигурацией. Будем считать, что полимерные цепочки соединены химическими связями (сшивками) через шарнирно связанные между собой звенья гибкой молекулярной сети. Структурный элемент, осуществляющий контакт сеть — полимер, сцеплен с текучей основой, и его движение непосредственно передается материалу оболочки.

Рассмотрим деформацию такого клеточного эластомера. Пусть его длина увеличилась на ΔL , став $L = L_0 + \Delta L$, при одновременном сжатии в поперечном направлении. Изменение энтропии при такой деформации /5/

$$\Delta S = 1,5V(\nu + \nu^2 B)k(L^2/3L_0^2 + 2L_0/3L), \quad (2)$$

где V — объем; ν — число сшивок в единице объема; B — второй вириальный коэффициент; k — постоянная Больцмана. Дифференцируя (2) по L , найдем выражение для растягивающего напряжения, которое в пределе малых деформаций $\Delta L \ll L_0$ имеет вид:

$$\sigma = (\nu + \nu^2 B)kT(L/L_0 - 1).$$

Отсюда число сшивок на клетку

$$N = FLL_0/kT\Delta L. \quad (3)$$

Подставляя в (3) числовые значения $\Delta L_1 = A_0 - A_1$, $\Delta L_2 = A_1$, $F = 2 \cdot 10^{-6}$ дин и принимая $B = 0$, получим $N_1 = 4,3 \cdot 10^5$; $N_2 = 9,6 \cdot 10^5$. Эти оценки близки по величине к общему числу молекул спектрина в клетке ($2,4 \cdot 10^5$).

Чтобы оценить размеры полимерных клубков l в недеформированном состоянии, определим время релаксации τ . Примем за τ время, в течение которого устанавливается гауссово распределение по длинам x в ансамбле одинаковых цепочек из m звеньев, если первоначальное распределение было отлично от равновесного. Один конец цепочки закрепим в плоскости $x = 0$, а другому позволим находиться в любой точке $|x| \ll am$, где a — длина звена. Изменение числа цепей n , свободные концы которых в момент t заключены между x и $x + dx$, происходит в результате диффузии этих концов и под действием силы f со стороны закрепленных звеньев:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = D \frac{\partial^2 n}{\partial x^2} + \frac{\partial}{\partial x} (unf), \quad (4)$$

где D — коэффициент диффузии; $u = D/kT$ — подвижность свободных концов. Полагая $f = kTx/a^2 m$, после умножения (4) на x и интегрирования получим $d\bar{x}/dt = -D\bar{x}/a^2 m$, где $\bar{x} = \int xndx / \int ndx$ — средняя длина цепочек. Отсюда $\tau = a^2 m/D$, т. е. время релаксации определяется диффузией свободного одиночного звена на расстояние порядка "диаметра" полимерного клубка $l = am^{1/2}$ в недеформированном состоянии. Если клубок находится в водном растворе, то $D \sim 10^{-5} \div 10^{-6}$ см²/с независимо от вида цепи. Если же точка локализована в (или на) мембране, $D \sim 10^{-10} \div 10^{-11}$ см²/с. Очевидно, должен реализоваться последний вариант, так как в противном случае размер клубков превышает размер клетки, т. е. $l \sim 10 - 100$ нм. При $l = 30$ нм и $N \sim 2 \cdot 10^5$ получим величину общей площади, занятой клубками, сравнимую с площадью поверхности мембраны (~ 135 мкм²).

Отметим, что $1/(A_0 - A_1) + 1/A_1 = 1/A_0$, т. е. $N_1 + N_2 = N'$. Это может означать, что в процессе повышения температуры от 15 до 25 °С происходит переадресация точек прикрепления сети с одного вида (видов) клубков на другой, конкурирующий вид, так что общее число сшивок остается постоянным. Это соответствует представлению, что все звенья спектриновой сети участвуют в связывании с мембраной. Становится наглядным механизм изменения сдвиговой деформируемости. Он сводится к конкурентному образованию субкаркасов, т. е. к процессу замыкания точек прикрепления сети на те или иные клубковые структуры с различными значениями эффективной жесткости.

В заключение приведем соответствующее эксперименту [3] приближенное выражение удлинения клетки при одноосном растяжении и $T \geq 30$ °С, когда имеют место сдвиговые деформации:

$$\Delta L(t) = \frac{F_0 L_0^2}{kT} \left[\left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} \right) - \frac{1}{N_2} \exp(-D_1 t/a_1^2 m_1) - \frac{1}{N_1} \exp(-D_2 t/a_2^2 m_2) \right];$$

$F = 0, t = 0; \quad F = F_0, t \geq 0.$

Отсюда легко получить временной ход удлинения для произвольной зависимости $F(t)$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивенси И., Скейлак Р. Механика и термодинамика биологических мембран. М., Мир, 1982.
2. Каро К. и др. Механика кровообращения, М., Мир, 1981.
3. Engelhardt H., Gaub H., Sackmann E. Nature (Lond.), 307, 378 (1984).
4. Волькенштейн М. В. Конфигурационная статистика полимерных цепей. Изд. АН СССР, М.-Л., 1959.
5. Лифшиц И. М., Гросберг А. Ю., Хохлов А. Р. УФН, 127, 353 (1979).
6. Женде П. Идеи скейлинга в физике полимеров. М., Мир, 1982.
7. Singer S., Nicolson G. Science, 175, 720 (1972).

Поступила в редакцию 9 июля 1985 г.