

УДК 577.31+577.171.53

К ВОПРОСУ ОБ ИЗМЕРЕНИИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ И МЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК

М. В. Фок, Г. А. Зарицкая

Показано, что цитоплазматическая мембрана эритроцита способна изменять свою проницаемость для кислорода на 4 порядка, а мембрана мышечной клетки – приблизительно в 300 раз, причем ее минимальная проницаемость близка к минимальной проницаемости мембраны эритроцита. В то же время, хотя молекулярный механизм изменения проницаемости мембран этих клеток принципиально одинаков и изменение проницаемости в обоих случаях вызвано изменением напряженности поля в мембране, интервал изменения поля в мембране эритроцита не перекрывается с интервалом изменения поля в мембране мышечной клетки. Следовательно, мембраны этих клеток сильно различаются по величине какого-то, пока неизвестного параметра.

Способность изменять проницаемость своей оболочки (цитоплазматической мембраны) для кислорода присуща всем клеткам с аэробной энергетикой. Она возникла еще на заре эволюции в связи с необходимостью поддерживать гомеостаз цитоплазмы по кислороду. Возникновение кровеносной системы не избавило клетки от этой необходимости, а значит, и от необходимости регулировать проницаемость цитоплазматической мембраны для кислорода. Более того, как было показано в работах [1 – 3], цитоплазматическая мембрана мышечных клеток может изменять свою проницаемость для кислорода на два с небольшим порядка, а мембрана эритроцита – на четыре порядка. Относительно других клеток данных пока найти не удалось, но несомненно, что и они могут изменять проницаемость своей цитоплазматической мембраны для кислорода в соответствии с

изменениями потребности в нем при переходе из состояния покоя в активное состояние и обратно.

В тех же работах был предложен и молекулярный механизм соответствующей перестройки мембраны. Согласно этому механизму, кислородная проницаемость обусловлена наличием в ее липидном матриксе долгоживущих сквозных пор, по которым кислород и другие некрупные молекулы могут свободно проходить сквозь мембрану. Число таких пор зависит от напряженности электрического поля в матриксе: чем сильнее поле, тем меньше пор, а, значит, меньше и проницаемость мембраны. Напряженность поля зависит, конечно, от разности потенциалов между цитоплазмой и внешней средой (т.е. плазмой крови в случае эритроцитов и межклеточной жидкостью в случае остальных клеток), а также от того, какая ее часть приходится на саму мембрану, ибо часть разности потенциалов может приходиться на слой адсорбированных на мембране молекул.

Клетки разных специализаций различаются по величине разности потенциалов между цитоплазмой и внешней средой. Так, у деоксигенированных эритроцитов она равна 8 мВ , а у мышечных клеток в состоянии покоя превышает 70 мВ , т.е. в 9 раз. Поскольку толщина цитоплазматической мембраны у всех клеток практически одинакова, то и напряженность поля в мембранах эритроцитов и мышечных клеток тоже различаются почти на порядок. В то же время строение цитоплазматической мембраны у них, как и у всех прочих клеток, в общих чертах одинаковое – тонкий липидный матрикс, состоящий из двух мономолекулярных слоев, в которых молекулы липидов обращены углеводородными цепями друг к другу, а дипольными головками – наружу, и встроенных в этот матрикс молекул белков. Поэтому и молекулярный механизм изменения их проницаемости принципиально один и тот же и может различаться только количественно, в соответствии с составом их цитоплазматических мембран, неразрывно связанным с функциональными особенностями клетки.

Чтобы установить, в чем именно состоят эти различия, прежде всего необходимо выяснить, как расположены друг относительно друг друга интервалы изменения проницаемости для кислорода цитоплазматических мембран этих клеток, а также, как расположены интервалы изменения напряженности электрического поля в их мембранах. Начнем с проницаемости. В организме кислород расходуется главным образом клетками мягких тканей, ибо кости, лимфа, межклеточная жидкость и сама кровь, а также содержание пищеварительного тракта кислорода почти не потребляют. Если учесть их массу, то получим, что у человека в 70 кг на клетки-потребители кислорода приходится всего около 30 кг . Секундный объем крови в состоянии покоя равен приблизительно 100 см^3 ,

а отдаваемый ею кислород распределяется в объеме, в 300 раз большем. При этом каждый эритроцит проходит по альвеолярному капилляру менее чем за секунду и за это время успевает почти полностью прийти в равновесие с альвеолярным газом. Это значит, что основную массу кислорода он получает приблизительно за 0.2 сек. А ткани получают кислород непрерывно. Следовательно, отнесенный к единице объема поток кислорода в эритроциты еще в пять раз более мощный, так что разница получается в $300 \times 5 = 1500$ раз. Оценим теперь соотношение площадей поверхности мышечных клеток, содержащихся в 1 см^3 ткани и эритроцитов в 1 см^3 крови. Поскольку мышечные клетки сильно вытянуты, площадью торцов можно пренебречь, а поперечные размеры клеток примем равными $5 \times 5 \text{ мкм}^2$. Площадь поверхности 1 см^3 таких клеток равна $8 \cdot 10^2 \text{ см}^2$. Если принять, что средний объем эритроцита равен 90 мкм^3 , а поверхность – 140 мкм^2 , то при гематокрите 0.45 площадь поверхности получится равной $7 \cdot 10^2 \text{ см}^2$, т.е. практически такой же, как у 1 см^3 мышечных клеток. Это значит, что плотность потока кислорода сквозь цитоплазматическую мембрану мышечной клетки в состоянии покоя в 1500 раз меньше, чем сквозь мембрану эритроцита в альвеоле.

Плотность потока газа сквозь мембрану равна, как известно, произведению проницаемости мембраны на разность напряжений этого газа (его парциальных давлений) по обе стороны мембраны. У эритроцитов при входе в альвеолу эта разность равна 60 ммрт.ст. (100 в альвеоле и 40 в цитоплазме эритроцита). В межклеточной жидкости вблизи артериального конца капилляра $p_{O_2} = 100 \text{ ммрт.ст.}$, а в цитоплазме клеток – всего 2 – 3 ммрт.ст., так что разность p_{O_2} в полтора с лишним раза больше, чем у эритроцитов. Это значит, что в состоянии покоя в норме проницаемость для кислорода цитоплазматических мембран мышечных клеток тысячи в две раз меньше, чем у эритроцитов при входе в альвеолы. Известно, что при дыхании чистым кислородом p_{O_2} в цитоплазме клеток почти не повышается, несмотря на то, что в альвеолах p_{O_2} увеличивается раз в пять. Это значит, что проницаемость цитоплазматической мембраны мышечных клеток может уменьшиться еще раз в пять. Тогда она станет того же порядка, что и минимальная проницаемость мембран эритроцита.

С другой стороны, известно, что интенсивно работающая мышца потребляет в десятки раз больше кислорода, чем покоящаяся. В литературе относительно этого встречается несколько противоречивые данные – от 30 до 100 раз. Мы возьмем для оценки среднее, т.е. 60 раз. (заметим, что включение множества новых капилляров в интенсивно работающей мышце не увеличивает среднее p_{O_2} в ее межклеточной жидкости, ибо одновременно возрастает и градиент p_{O_2} в межклеточной жидкости, обеспечиваю-

щий диффузионный поток кислорода к клеткам). Следовательно, цитоплазматическая мембрана мышечной клетки может увеличивать свою проницаемость для кислорода раз в 60 по сравнению с проницаемостью в покое. Полный интервал изменения проницаемости получается порядка 300 раз, причем наименьшая проницаемость близка к наименьшей проницаемости у эритроцитов, а наибольшая – раз в 30 меньше наибольшей проницаемости у эритроцитов.

Перейдем теперь к интервалам изменения напряженности электрического поля. Во время оксигенации напряженность электрического поля в мембране эритроцита возрастает по нескольким причинам. Как известно, на внутренней поверхности мембраны деоксигенированного эритроцита имеется слой адсорбированного деоксигемоглобина. По нашим измерениям адсорбированного гемоглобина достаточно для образования на мембране сплошного слоя приблизительно той же толщины, что и липидный матрикс мембраны. Это значит, что на матрикс приходится лишь половина разности потенциалов, имеющейся между цитоплазмой эритроцита и плазмой крови. Молекулы оксигемоглобина, напротив, практически не адсорбируются на мембране. Очевидно, что в альвеолах первыми оксигенируются адсорбированные на мембране молекулы гемоглобина. Поэтому уже в самом начале оксигенации мембрана освобождается от адсорбированного слоя гемоглобина и поле в ней удваивается.

Аналогичный механизм изменения поля в мембране работает, по-видимому, и в мышечных, а вероятно, и в других клетках. Разница состоит лишь в том, что вместо гемоглобина адсорбируются и десорбируются комплексы миоглобина с онкобелком. Чувствительным к кислороду элементом служит в них миоглобин, так как он тоже способен обратимо присоединять кислород, изменяя при этом свой заряд, а значит, и адсорбционные свойства. Молекулярная масса такого комплекса близка к массе гемоглобина, следовательно и их объемы различаются мало, а толщина адсорбированного слоя – и того меньше. Поэтому можно считать, что такой комплекс тоже уменьшает величину приходящейся на мембрану разности потенциалов приблизительно вдвое. Примем для расчетов, что разность потенциалов на мембране мышечной клетки может изменяться от 36 до 72 мВ.

На адсорбционно-десорбционном механизме изменения напряженности поля в мембране аналогия между эритроцитами и мышечными клетками заканчивается, ибо у эритроцитов кроме того увеличивается и трансмембранная разность потенциалов, а у мышечных клеток она все время остается неизменной. Дело в том, что фермент карбоангидраза, ускоряющий на два порядка обратимую реакцию



находится внутри эритроцитов, а молекулы CO_2 переходят в альвеолярный газ из плазмы крови. Поэтому, когда эритроцит попадает в альвеолярный капилляр, возникает диффузионный поток CO_2 из эритроцитов в плазму крови и поток ионов HCO_3^- из плазмы в эритроцит. Вносимый этими ионами отрицательный заряд вызывает увеличение трансмембранной разности потенциалов. Рост ее ограничивается возникающим при этом дрейфовым потоком ионов Cl^- , частично компенсирующим отрицательный заряд, вносимый ионами HCO_3^- . Однако полной компенсации все же не получается и трансмембранная разность потенциалов несколько возрастает.

Насколько она возрастает, можно оценить на основе известных физиологических данных. Эти данные следующие: в плазме крови в венах $pCO_2 = 46$ ммрт.ст., концентрация HCO_3^- равна 27 мМ/л, трансмембранная разность потенциалов 8 мВ; в артериях $pCO_2 = 40$ ммрт.ст., рН на 0.02 больше, чем в венах [4], гематокрит в венах и в артериях равен 0.45; концентрация гемоглобина в цитоплазме эритроцита 6 мМ/л; дыхательный коэффициент (отношение количества выдыхаемых молекул CO_2 к количеству вдыхаемых молекул O_2) равен 0.85 (остальные 15% идет главным образом на образование H_2O).

Мыслимы два крайних случая: 1) когда в плазме крови реакция (1) идет, из-за отсутствия карбоангидразы, настолько медленно, что несмотря на изменение концентрации CO_2 , величины концентраций H_2CO_3 и HCO_3^- остаются практически неизменными в течение всего цикла кровообращения и 2) когда эта реакция идет так быстро, что концентрации H_2CO_3 и HCO_3^- все время находятся в равновесии с CO_2 и изменяются в соответствии с изменениями pCO_2 и рН. В обоих случаях почти все молекулы CO_2 , которым предстоит перейти из крови в альвеолярный газ, возникают внутри эритроцитов, но в первом случае они возникают из тех молекул H_2CO_3 и ионов HCO_3^- , которые уже были там до входа эритроцита в альвеолярный капилляр, а во втором – значительная часть ионов HCO_3^- , из которых в дальнейшем образуются молекулы CO_2 , поступает в эритроцит из плазмы крови во время его движения по альвеолярному капилляру. Поэтому в первом случае концентрация HCO_3^- в цитоплазме эритроцитов уменьшается, а их трансмембранный потенциал возрастает значительно сильнее, чем во втором.

Вычислим, какой величины он достигает в том и в другом случае. Для этого надо подвести баланс углекислоты. В легких, как известно, каждая молекула гемоглобина

присоединяет, в среднем, по одной молекуле кислорода. Как показывает величина дыхательного коэффициента, в дальнейшем 85% из этих молекул кислорода образуют молекулы CO_2 , которые при следующем прохождении крови по альвеолярному капилляру удаляются из крови (так как вода удаляется разными путями, ее баланс мы подводить не будем).

Из этих данных, учитывая концентрацию гемоглобина в эритроците, получаем, что в эритроцитах 5.1 мМ/л ионов HCO_3^- превращаются в CO_2 и выходят наружу. В первом случае ровно настолько же уменьшается их концентрация в цитоплазме эритроцитов. Если перед входом в альвеолярный капилляр и после выхода из него ионы HCO_3^- цитоплазмы эритроцита и плазмы крови были в равновесии друг с другом (но не в равновесии с CO_2 плазмы!), то отсюда можно вычислить изменение трансмембранного потенциала. Перед входом в альвеолу он был равен 8 мВ , что соответствует концентрации HCO_3^- внутри эритроцитов, равной 19.8 мМ/л . После выхода из альвеолы она стала на 5.1 мМ/л меньше, т.е. 14.7 мМ/л . Поскольку снаружи эритроцита она осталась равной 27 мМ/л , то отсюда следует, что разность потенциалов возросла до 15.8 мВ , т.е. почти в два раза.

Рассчитаем теперь изменение концентраций HCO_3^- внутри и вне эритроцитов во втором случае, т.е. в условиях равновесия с CO_2 . Уравнение равновесия при диссипации угольной кислоты имеет вид

$$[HCO_3^-] \cdot [H^+] = K_1[H_2CO_3], \quad (2)$$

а уравнение равновесия в реакции (1)

$$[H_2CO_3] = K_2[CO_2], \quad (3)$$

где прямыми скобками обозначены соответствующие концентрации, K_1 – константа равновесия диссипации угольной кислоты, а через K_2 обозначено произведение константы равновесия в реакции (1) на концентрацию молекулы воды, поскольку она постоянна. Исключая из этих двух уравнений H_2CO_3 , получим

$$[HCO_3^-] \cdot [H^+] = K_1 K_2 [CO_2]. \quad (4)$$

Выпишем это уравнение отдельно для артериальной и для венозной крови и разделим полученные два уравнения одно на другое. Произведение $K_1 K_2$ при этом сократится. А, поскольку величины $[CO_2]$ пропорциональны соответствующим pCO_2 , то их отношение можно заменить отношением pCO_2 . Тогда получится

$$\frac{[HCO_3^-]/a \cdot [H^+]/a}{[HCO_3^-]/b \cdot [H^+]/b} = \frac{pCO_2/a}{pCO_2/b}, \quad (5)$$

где индексы "а" и "в" указывают, относится ли данная величина к артериальной или к венозной крови. Как уже отмечалось, pH артериальной крови на 0.02 больше pH венозной крови. Величина этой разности дает нам величину отношения $[H^+]/a/[H^+]/b$, а остальные величины в (5), кроме $[HCO_3^-]/a$, известны. Подставив их в (5), получаем, что $[HCO_3^-]/a = 24.6 \text{ мМ/л}$.

Зная гематокрит H_c , отсюда можно найти, сколько углекислоты удаляется в альвеолах из плазмы каждого литра проходящей по ним крови:

$$([HCO_3^-]/b - [HCO_3^-]/a)(1 - H_c) = 1.3 \text{ мМ}. \quad (6)$$

С другой стороны, общее количество углекислоты, удаляющееся в альвеолах из каждого проходящего по ним литра крови, равно, очевидно,

$$5.1H_c = 2.3 \text{ мМ}. \quad (7)$$

Отсюда получается, что из эритроцитов, содержащихся в литре крови, удаляется 1.0 мМ углекислоты. Следовательно, ее концентрация понижается там на

$$1.0/H_c = 2.2 \text{ мМ/л}, \quad (8)$$

так что в цитоплазме артериальных эритроцитов остается $[HCO_3^-] = 17.6 \text{ мМ/л}$. Если считать, что в артериальной крови тоже устанавливается равновесие по ионам HCO_3^- между цитоплазмой эритроцитов и плазмой крови, то отсюда получается, что во втором случае (равновесие по CO_2) из-за удаления углекислоты трансмембранная разность потенциалов повышается лишь до 8.7 мВ. В первом (предельно неравновесном) случае она достигала 15.8 мВ. Очевидно, что истина находится где-то посередине. Можно полагать, что удаление углекислоты из крови повышает трансмембранную разность потенциалов у эритроцитов раза в полтора с небольшим, доводя ее до 12 – 13 мВ. С этой оценкой согласуется и другая, более точная, основанная на более подробном рассмотрении процессов, протекающих в цитоплазме находящихся в альвеолярных капиллярах эритроцитов.

Итак, десорбция оксигемоглобина с мембраны эритроцита и удаление углекислоты из его цитоплазмы приводят к увеличению трансмембранной разности потенциалов раза в полтора, а напряженности поля в мембране – приблизительно в три раза. Это имеет

важные последствия. Во-первых, сильно уменьшается проницаемость мембраны эритроцита, причем, не только для кислорода, но и для других мелких частиц, в частности, для ионов Na_a^+ , для которых нет специальных каналов или переносчиков. А, во-вторых, несмотря на повышение pH плазмы крови на 0.02, повышение трансмембранной разности потенциалов от 8 всего до 12 мВ приводит к некоторому закислению цитоплазмы эритроцита, а в более кислой среде ионные насосы (K, Na -АТФаза) работают более интенсивно.

И то, и другое приводит к возрастанию трансмембранной разности потенциалов. Дело в том, что в каждом акте своей работы ионные насосы выкачивают из эритроцита по 3 иона N_a^+ и закачивают в него по 2 иона K^+ , так что один положительный заряд остается снаружи. В стационарном состоянии вынос насосами положительных зарядов с ионами N_a^+ компенсируется их диффузионно-дрейфовым потоком внутрь. В данном же случае вынос ионов N_a^+ больше стационарного, а их поток внутрь – меньше. В результате отрицательный заряд цитоплазмы возрастает, а значит, возрастает и трансмембранная разность потенциалов, цитоплазма еще более закисляется, а проницаемость мембраны уменьшается, еще сильнее увеличивается разность между потоком натрия наружу и внутрь и т.д.

Эта цепочка процессов с положительной обратной связью не приводит к неустойчивости эритроцита лишь потому, что одновременно увеличивается дрейфовый поток ионов Cl^- наружу, препятствующий возрастанию отрицательного заряда цитоплазмы. Борьба этих двух тенденций продолжается и после выхода эритроцита из альвеолы. Концентрации АТФ в цитоплазме эритроцита достаточна для обеспечения бесперебойной интенсивной работы ионных насосов в течение всего цикла кровообращения. Поэтому трансмембранная разность потенциалов не убывает, а постепенно возрастает, приближаясь к стационарному значению. В настоящее время невозможно сказать точно, на какой уровне заканчивается этот рост – для этого необходимо знать pH цитоплазмы находящихся в артериях эритроцитов. Пока можно лишь утверждать, что у них трансмембранная разность потенциалов выше 12 мВ, но вряд ли достигает той, какая существует у мышечных клеток (72 мВ). Весьма вероятно, что она не достигает и половины этого значения. Другими словами, интервалы изменения трансмембранной разности потенциалов у эритроцитов и мышечных клеток, по всей вероятности, даже не имеют общих точек.

То, что несмотря на это, минимальные значения проницаемости у мембран эритроцитов и мышечных клеток близки друг к другу, означает, что их мембраны сильно

различаются по величине какого-то параметра. Но вопрос об этом – тема другой статьи.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Фок М. В., Зарицкий А. Р. Авторегуляция, как основа гомеостаза клеток. М., Космоинформ, 1977 г., с. 103.
- [2] Зарицкий А. Р., Переведенцева Е. В., Прокопенко Г. А., Фок М. В. Краткие сообщения по физике, ФИАН, N 9 – 10, 29 (1994).
- [3] Фок М. В., Зарицкий А. Р., Прокопенко Г. А., Переведенцева Е. В. Краткие сообщения по физике, ФИАН, N 1 – 2, 9 (1996).
- [4] Иванов К. П. Основы энергетики организма, 2, Биологическое окисление и его обеспечение кислородом. СПб, Наука, 1993 г., с. 163.

Поступила в редакцию 16 февраля 2001 г.