

УДК 577.3+612.23:612.275.1

## ИЗМЕНЕНИЕ КИСЛОРОДНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТАРНОЙ МЕМБРАНЫ ПРИ ОКСИГЕНАЦИИ

М. В. Фок, А. Р. Зарицкий, Г. А. Прокопенко,  
Е. В. Переведенцева

*Показано, что в процессе оксигенации проницаемость мембраны эритроцита для кислорода уменьшается по крайней мере в 20 тысяч раз.*

При исследовании кинетики оксигенации и деоксигенации эритроцитов донорской крови в работе [1] было показано, что в конце оксигенации мембрана эритроцита уменьшает свою проницаемость для кислорода не менее, чем в 20 – 30 раз. Однако, абсолютная величина проницаемости не была измерена. В данной работе мы дополнили измерения кинетики оксигенации крови измерениями напряжения кислорода в плазме крови, что позволило оценить абсолютную величину проницаемости мембраны в каждый момент оксигенации.

В опытах использовалась установка, описанная в работе [2]. В ней кровь циркулировала по замкнутому пути, проходя последовательно оксигенатор, оптический оксиметр и перистальтический насос. В оксигенаторе кровь соприкасалась с воздухом, причем площадь поверхности соприкосновения можно было изменять в несколько раз, сохраняя постоянной в течение одного опыта. Температура крови поддерживалась равной  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , влажность воздуха – около 100%.

Перед измерением кровь оксигенировали в атмосфере аргона в течение часа. Для обеспечения работы ферментной системы в кровь добавляли глюкозу из расчета 1 г/л до деоксигенации и 2 г/л после деоксигенации (что лежит в пределах физиологической нормы) и 3,8%-ный раствор цитрата натрия из расчета 60 мл/л во избежание коагуляции. При отклонении рН крови от нормальной доводили ее до  $\text{pH} = 7,4 - 7,45$ , осторожно добавляя 300 миллимольный раствор NaOH (или, при необходимости, HCl).

В каждом опыте кровь одного донора делилась на равные части и после описанной выше подготовки пробы крови оксигенировались при фиксированной площади соприкосновения с воздухом. Степень оксигенации  $\alpha$  начинали измерять с  $\alpha \approx 35\%$  и

заканчивали, когда она переставала изменяться, что позволяло охватить весь физиологический диапазон. Во время оксигенации из крови периодически отбирались пробы 50 – 60 мкл для измерения напряжения кислорода в плазме крови  $P_{pl}$ . После оксигенации останавливали циркуляцию крови в оксигенаторе и по изменению степени оксигенации крови в отсутствие газообмена с воздушной средой определяли скорость внутреннего потребления кислорода кровью.

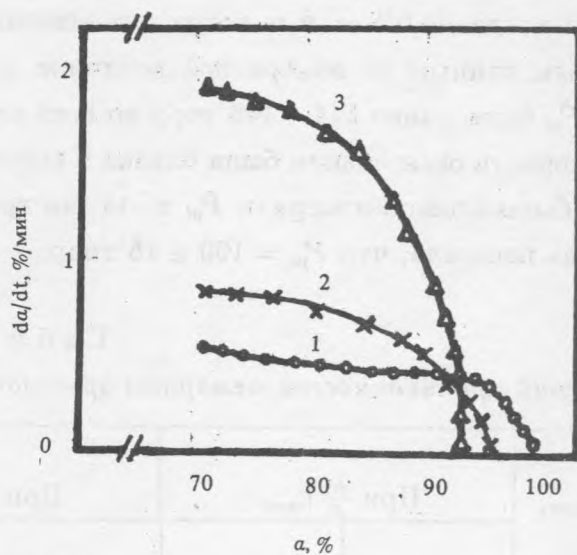


Рис. 1. Кинетика оксигенации при разных площадях контакта крови с воздухом ( $\alpha$  – степень оксигенации). Большой номер кривой соответствует большей площади контакта.

Ожидалось, что при большей площади соприкосновения с воздухом кровь будет оксигенироваться быстрее. На опыте, однако, оказалось, что когда степень оксигенации  $\alpha$  достигает 90 – 95%, скорость оксигенации резко уменьшается и становится меньше скорости оксигенации при меньшей площади соприкосновения крови с воздухом (рис. 1). Это указывает на то, что в первой пробе крови возникает дополнительное препятствие для прохождения кислорода внутрь эритроцитов. Поскольку все остальные условия оксигенации соблюдались строго одинаковыми, таким препятствием может быть лишь мембрана эритроцита. Прекращение роста степени оксигенации несмотря на то, что она не достигла равновесной величины, объясняется тем, что кислород, поступающий внутрь эритроцита, полностью поглощается вследствие окислительных процессов.

Скорость внутреннего потребления кислорода  $v$  измерялась на тех же образцах крови. Это дало возможность найти абсолютную величину проницаемости мембраны эритроцита  $\rho$  (в %/мин·торр) как отношение:

$$\rho = (d\alpha/dt + v)/(P_{pl} - P_{er}), \quad (1)$$

где  $P_{er}$  – напряжение кислорода в цитоплазме эритроцита.

Значение проницаемости эритроцитарной мембраны было найдено для каждого образца крови в двух случаях: когда  $d\alpha/dt = 0$  и когда она максимальна. Величина  $P_{er}$  находилась по табличным данным по измеренной величине  $\alpha$ , с учетом рН и температуры. Оказалось, что  $P_{pl}$  было равно 144 – 145 торр во всех случаях, когда оксигенация останавливалась. Скорость оксигенации была близка к максимальной, когда  $\alpha = 40 - 70\%$ . В этом случае было сложно измерить  $P_{pl}$  из-за быстрого поступления кислорода в цитоплазму. Оценка показала, что  $P_{pl} = 100 \pm 15$  торр.

Т а б л и ц а 1

Результаты измерений проницаемости мембраны эритроцитов

рН	Внутреннее потребление кислорода, $\frac{\%}{\text{мин}}$	$\frac{d\alpha}{dt}  _{max}$ , $\frac{\%}{\text{мин}}$	При $\frac{d\alpha}{dt}  _{max}$		При $\frac{d\alpha}{dt} = 0$	
			$P_{er}$ , торр	$\rho$ , $\frac{\%}{\text{мин}\cdot\text{торр}}$	$P_{er}$ , торр	$\rho$ , $\frac{\%}{\text{мин}\cdot\text{торр}}$
7,15	$0,047 \pm 0,007$	2,5	$21,7 \pm 1$	$3,2 \cdot 10^{-2}$	$45,8 \pm 1,8$	$4,8 \cdot 10^{-4}$
7,40	$0,047 \pm 0,007$	1,8	$32,7 \pm 1$	$2,7 \cdot 10^{-2}$	$29,5 \pm 0,8$	$4,1 \cdot 10^{-4}$
7,40	$0,13 \pm 0,03$	4,8	$20,2 \pm 1$	$6,0 \cdot 10^{-2}$	$41,5 \pm 2$	$12,6 \cdot 10^{-4}$

Результаты трех типичных экспериментов представлены в таблице 1, которая хорошо отражает разброс свойств крови от опыта к опыту. Для того, чтобы получить значения  $\rho$  в см/с, следует умножить  $\rho$  в %/мин·торр на  $1,5 \cdot 10^{-4}$  см·мин·торр/с·%. Из таблицы видно, что несмотря на разброс данных уменьшение проницаемости мембраны эритроцитов при оксигенации составляет десятки раз. Величина уменьшения, усредненная по 11 опытам, составила приблизительно 70 раз.

Сравним наши результаты с тем, что наблюдается *in vivo*. Как известно, капилляры альвеол эритроцит проходит быстрее, чем за 1 с, а величина  $\alpha$  за это время повышается с 70 – 72% до 96 – 98%. Следовательно,  $d\alpha/dt > 1500$  %/мин. С другой стороны, в альвеолах  $pO_2 \leq 102$  торр и  $P_{er} \geq 41$  торр. Отсюда следует, что в легких кислородная

проницаемость мембраны эритроцита  $\rho > 24$  %/мин·торр, т.е. приблизительно в 400 раз превосходит максимальную и в 20 тысяч раз – минимальную проницаемость мембраны эритроцита, наблюдаемую в наших экспериментах. Эта разница связана, вероятно, с отличием условий опыта от условий *in vivo*, в частности, с тем, что мы исследовали только декарбоксилированную кровь, тогда как *in vivo* в ней  $pCO_2 > 40$  торр.

Проницаемость уменьшается лишь в самом конце оксигенации, а восстанавливается высокая проницаемость, по-видимому, вследствие взаимодействия эритроцитов со стенками капилляров тканей-потребителей кислорода. Об этом говорят следующие анатомические особенности кровеносной системы: 1) диаметр большинства капилляров меньше диаметра эритроцитов, причем самые тонкие капилляры (3 – 4 мкм при диаметре эритроцитов около 7 мкм) имеют тнани, особенно чувствительные к недостатку кислорода; 2) кольцевые мышцы, регулирующие просвет артерий, имеют собственные капилляры, хотя в непосредственной близости от них протекает поток насыщенной кислородом крови; 3) те капилляры, диаметр которых больше диаметра эритроцитов, как например, в сетчатке глаз, изогнуты и имеют внутренние выступы, о которые эритроциты задевают при прохождении через такой капилляр. (Излишний кислород в сетчатке вреден, т.к. он окисляет родопсин. Но, в то же время, кислород необходим для питания клеток сетчатки. Выступы, по-видимому, служат для дозированной и строго своевременной доставки кислорода этим клеткам.) Имеются и другие особенности.

Биологическая целесообразность изменения проницаемости мембраны эритроцитов очевидна. Кислород доставляется к месту назначения без потерь и выделяется там в нужном количестве. Эритроцит не является в этом отношении исключением. Анализ данных нормальной физиологии показывает, что оболочки клеток других тканей также способны изменять свою проницаемость для кислорода, хотя, возможно, и в более узких пределах. В общих чертах молекулярный механизм такого изменения проницаемости белково-липидной мембраны нами изучен. Однако этот вопрос выходит за рамки настоящей статьи.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Фок М. В., Зарицкий А. Р., Прокопенко Г. А. Биофизика, **34**, 901 (1989).
- [2] Фок М. В. и др. Биофизика, **33**, 622 (1988).

Поступила в редакцию 9 июля 1993 г.