

БІОФІЗИКА КЛІТИНИ

УДК 577.352.4:611.018.51

ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ЯВЛЕНИЯ ГИПОТОНИЧЕСКОГО ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА. II. ЭТАП ГЕМОЛИЗА.

Е.А.Гордиенко, Ю.Е.Панина
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины Харьков, ул. Переяславская, 23, 310015
 Поступила в редакцию 1 августа 1998 г.

В данной работе построена физико-математическая модель гипотонического гемолиза эритроцитов человека, которая количественно описывает кинетику этого явления при погружении клеток в гипертонический водный раствор проникающего в них электрически нейтрального вещества на этапе гемолиза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эритроцит человека, физико-математическая модель, гипотонический гемолиз, пора.

В соответствии с представлениями, изложенными в [1,2], через образовавшуюся в изотропно растянутой мембране эритроцита макроскопическую пору происходит выброс части внутриклеточного содержимого из клетки наружу под действием остаточного давления. При этом давление внутри клетки быстро падает до критического значения, и относительный объем клетки уменьшается до значения, с точностью до пренебрежимо малой поправки совпадающего с $y_s = (1/6\sqrt{\pi})(S_0)^{3/2}$ (S_0 - площадь поверхности мембраны в физиологическом растворе). В этот момент времени пора закрывается, так как ее существование становится термодинамически невыгодным (свободная энергия деформации в отсутствие поры принимает меньшее значение, чем свободная энергия мембраны, в которой имеется пора). Поскольку при этом не исчезает трансмембранный перепад концентрации проникающего в эритроцит вещества, процесс проникновения этого вещества в клетку продолжается и соответственно объем клетки по мере его проникновения снова увеличивается вплоть до образования новой мембранной поры по указанному выше механизму. Таким образом, гемолиз эритроцита, как будет показано ниже, представляет собой "почти периодический" процесс.

Будем ради краткости называть участок процесса гемолиза от момента закрывания i -й поры до момента образования $(i+1)$ -й макроскопической поры в мембране отдельного эритроцита i -м этапом его гемолиза. Нижним индексом p в дальнейшем будем обозначать значения помеченных им величин в момент образования макроскопической поры в мембране эритроцита. Верхним индексом (в круглых скобках) (i) обозначаются текущие значения помеченных им величин на i -м этапе гемолиза. Момент образования i -й поры в мембране эритроцита обозначается как $t_p^{(i)}$, а значение относительного объема клетки в этот момент времени - через $y_p^{(i)}$. Остальные обозначения совпадают с обозначениями, принятыми в предыдущей статье. Промежутки времени, за которые осуществляется выброс внутриклеточного раствора через пору [2] пренебрежимо малы по сравнению с продолжительностью i -го этапа гемолиза, вследствие чего можно считать эти промежутки времени равными нулю.

Если считать внутриклеточное содержимое равномерно распределенным внутри эритроцита и принять во внимание, что через макроскопическую пору часть внутриклеточного раствора выбрасывается как единое целое, получаем очевидные соотношения между количеством молей проникающего и не проникающего через клеточную мембрану веществ (M) и объемной долей осмотически неактивных внутриклеточных веществ (α) до и после образования i -й поры:

$$M_p^{(i)} = M^{(i)}(t_p^{(i)}) = M^{(i-1)}(t_p^{(i)}) \frac{y_s}{y_p^{(i)}} \quad (1)$$

$$\alpha_p^{(i)} = \alpha^{(i)}(t_p^{(i)}) = \alpha^{(i-1)}(t_p^{(i)}) \frac{y_s}{y_p^{(i)}}, \quad i = 1, 2, 3, \dots$$

Следствием первого из условий (1) является то, что концентрация растворенных внутри эритроцита веществ в результате выброса внутриклеточного раствора через мембранную пору не изме-

няется. Поскольку содержание не проникающих через клеточную мембрану и осмотически неактивных веществ внутри клетки изменяются только в моменты времени, когда в сфероците образуются мембранные поры, для текущих значений этих величин на i -м этапе гемолиза имеем

$$M^{(i)} = M(0) \frac{y_s^i}{\prod_{k=1}^{i-1} y_p^{(k)}}, \quad \alpha^{(i)} = \alpha \frac{y_s^i}{\prod_{k=1}^{i-1} y_p^{(k)}}, \quad i = 1, 2, 3, \dots \quad (2)$$

где $M(0)$ - исходное содержание не проникающих через мембрану эритроцита в норме веществ внутри клетки. Легко показать, что приведенная концентрация \hat{n}^{in} или приведенное осмотическое давление $\hat{\pi}^{in}$ непроникающих внутриклеточных веществ на интервале времени между образованием i -й и $(i+1)$ -й пор равно

$$\hat{n}^{in} = \hat{\pi}^{in} = \frac{(1 - \alpha) \frac{y_s^i}{\prod_{k=1}^{i-1} y_p^{(k)}}}{y - \alpha \frac{y_s^i}{\prod_{k=1}^{i-1} y_p^{(k)}}}, \quad i = 1, 2, 3, \dots \quad (3)$$

легко сообразить также, что начальное значение внутриклеточной концентрации проникающего через клеточную мембрану вещества на i -м этапе гемолиза равно конечному значению этой величины на предыдущем этапе.

$$A^{(i)} = \frac{y_s^i}{\prod_{k=1}^{i-1} y_p^{(k)}}, \quad x^{(i)} = y^{(i)} - \alpha A^{(i)},$$

$$x_s^{(i)} = y_s^{(i)} - \alpha A^{(i)}, \quad \tilde{x}^{(i)} = \tilde{y}^{(i)} - \alpha A^{(i)},$$

$$y^{(i)}(t_p^{(i)}) = \tilde{y}^{(i)}, \quad i = 1, 2, 3, \dots$$

На i -м этапе гемолиза с учетом приведенных выше соображений и обозначений уравнения трансмембранного переноса веществ в водном растворе проникающего в клетку растворенного неэлектролита имеют вид

$$\hat{\sigma}\pi^{(i)} - \hat{\sigma}\pi' + \frac{(1 - \alpha)A^{(i)}}{x^{(i)}} - \frac{2}{3} C'(x^{(i)} - x_s^{(i)}) = 0$$

$$x^{(i)} \frac{dx^{(i)}}{dt} (4C'x^{(i)} + 3\hat{\sigma}\pi' - 2C'x_s^{(i)}) dx^{(i)} = 3(1 - \alpha)A^{(i)} - 2C'x^{(i)}(x^{(i)} - x_s^{(i)}) \quad (4)$$

$$i = 1, 2, 3, \dots$$

Решение второго из этих уравнений есть

Таким образом, изменение относительного объема эритроцита со временем на i -м этапе гемолиза полностью определяется уравнениями (5) и (8). Время, при котором в мембране эритроцита образуется i -я пора, равно:

$$t_p^{(i)} = t_p + \sum_{k=1}^{i-1} t_p(k) + \frac{\langle t_p^{(i)} \rangle^*}{1 + \frac{\gamma K \langle t_p^{(i)} \rangle^* 3\pi\gamma_0^2 [3(1-\alpha)A^{(i)} - 2C'(y^{(i)*} - y_s)(y^{(i)*} - \alpha A^{(i)})]}{2kTR_s\pi_0 C'(y^{(i)*} - y_s)^2 (y^{(i)*} - \alpha A^{(i)}) [3\sigma\pi' + 2C'(2y^{(i)*} - y_s - \alpha A^{(i)})]}}, \quad i=1,2,3,\dots \quad (9)$$

Здесь $y^{(i)*}$ - значение относительного объема клетки, при котором $t^{(i)} = \langle t_p^{(i)} \rangle = \langle t_p^{(i)} \rangle^*$, где $t^{(i)}$ определяется решением (5) с учетом начального условия (8), а $\langle t_p^{(i)} \rangle$ равно [2]:

$$\langle t_p^{(i)} \rangle = A'C'(y - y_s)^{-1/2} \exp \left(\frac{3\pi\gamma_0^2}{kTR_s\pi_0 C'(y - y_s)} \right)$$

Полученные выше соотношения полностью описывают кинетику гемолиза отдельного эритроцита в гипертоническом водном растворе проникающего в клетку вещества. При этом параметр α , очевидно, можно трактовать как объемное содержание гемоглобина в эритроците. На рис. 1, 2 представлены рассчитанные по разработанному нами алгоритму зависимости относительного объема эритроцита и объемной доли осмотически неактивных внутриклеточных веществ (гемоглобина) от времени как на этапе набухания, так и на этапе гемолиза при типичных для

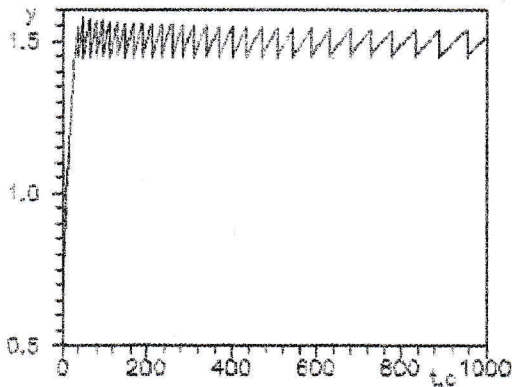


Рис.1 Зависимость относительного объема эритроцита от времени, вычисленная при следующих значениях параметров:

$$\alpha = 0,4; \sigma = 0,95; T = 298 \text{ K}; \pi' = 3; \gamma K = 0,1 \text{ c}^{-1}; C' = 0,25.$$

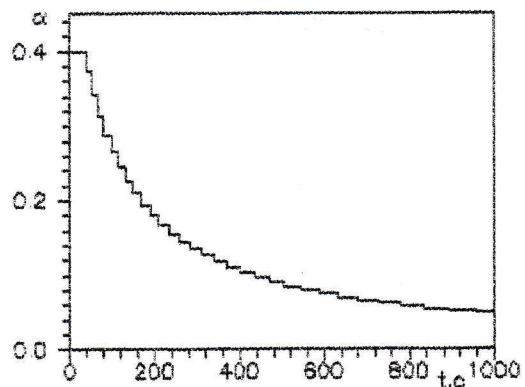


Рис.2 Зависимость объемной доли осмотически неактивных внутриклеточных веществ от времени вычисленной при следующих значениях параметров:

$$\alpha = 0,4; \sigma = 0,95; T = 298 \text{ K}; \pi' = 3; \gamma K = 0,1 \text{ c}^{-1}; C' = 0,25.$$

эритроцита человека значениях фигурирующих в теории параметров C' , π' и γK . На рис. 3,4 показана зависимость времени, за которое из эритроцита выбрасывается половина гемоглобина от первоначально содержащегося в клетке количества, от тех же параметров. Как следует из приведенных данных, с уменьшением коэффициента проницаемости мембраны эритроцита для проникающего в клетки вещества и увеличением параметра C' , который прямо пропорционален модулю изотермического растяжения мембраны, в среднем увеличивается частота образования пор в ней и понижается амплитуда связанных с этим изменений клеточного объема на этапе гемолиза. Время, за которое из эритроцита выбрасывается определенное количество гемоглобина, с увеличением параметров K и C' падает и растет прямо пропорционально осмотическому давлению растворенного во внеклеточной среде вещества. Количество внутриклеточного раствора,

$$\begin{aligned}
 \hat{t}^{(i)} = \hat{t}_p^{(i-1)} - 2[x^{(i)} - x^{(i)}(t_p^{(i-1)})] - \frac{3\sigma\pi' + 2C'x_s^{(i)}}{4C'} \times \ln \left[\frac{3(1-\alpha)A^{(i)} - 2C'x^{(i)}(x^{(i)} - x_s^{(i)})}{3(1-\alpha)A^{(i)} - 2C'x^{(i)}(t_p^{(i-1)})(x^{(i)}(t_p^{(i-1)}) - x_s^{(i)})} \right] + \\
 + \frac{3\sigma\pi'x_s^{(i)} + 2C'x_s^{(i)}x_s^{(i)} + 12(1-\alpha)A^{(i)}}{4\sqrt{C'}\sqrt{2C'x_s^{(i)}x_s^{(i)} + 12(1-\alpha)A^{(i)}}} \times \ln \left[\frac{\sqrt{C'x_s^{(i)}x_s^{(i)} + 6(1-\alpha)A^{(i)}} + 2\sqrt{C'(x^{(i)} - x_s^{(i)}/2)}}{\sqrt{C'x_s^{(i)}x_s^{(i)} + 6(1-\alpha)A^{(i)}} - 2\sqrt{C'(x^{(i)} - x_s^{(i)}/2)}} \right] \times \\
 \times \left[\frac{\sqrt{C'x_s^{(i)}x_s^{(i)} + 6(1-\alpha)A^{(i)}} + 2\sqrt{C'(x^{(i)}t_p^{(i-1)} - x_s^{(i)}/2)}}{\sqrt{C'x_s^{(i)}x_s^{(i)} + 6(1-\alpha)A^{(i)}} - 2\sqrt{C'(x^{(i)}t_p^{(i-1)} - x_s^{(i)}/2)}} \right]
 \end{aligned} \quad (5)$$

Конечно, в начальный для i -го этапа гемолиза момент времени квазистационарное равновесие нарушается. Действительно, в этот момент времени $\hat{\pi}^{(i)}(t_p^{(i-1)}) = \hat{\pi}_p^{(i-1)}$ и $y^{(i)}(t_p^{(i-1)}) = y_s$, а в конце предыдущего этапа гемолиза те же уравнения удовлетворяют условиям

$$\hat{\pi}^{(i-1)}(t_p^{(i-1)}) = \hat{\pi}_p^{(i-1)} \quad \text{и} \quad y^{(i-1)}(t_p^{(i-1)}) = y_p^{(i)}$$

Можно, однако, считать, что очень быстро, за промежуток времени порядка τ_0 , квазистационарное состояние восстанавливается практически только за счет перераспределения воды, а не растворенных веществ, между клетками и окружающей их средой. Поэтому для расчета этого нового условия квазистационарности, которое определяет начальное условие для решения укороченной системы уравнений на i -м этапе гемолиза, можно допустить, что внутриклеточное содержание не только не проникающих через клеточную мембрану веществ, но и проникающего вещества на протяжении времени релаксации к новому квазистационарному состоянию остается неизменным. Поэтому при определении нового квазистационарного состояния можно считать (как и для непроникающего вещества)

$$\hat{n}^{(i)} = \hat{\pi}^{(i)} = \frac{\hat{\pi}_p^{(i-1)}(y_s - \alpha A^{(i)})}{y^{(i)} - \alpha A^{(i)}}, \quad i = 1, 2, 3, \dots \quad (6)$$

Поэтому в квазистационарном равновесии в начале i -го этапа гемолиза получаем

$$\frac{\hat{\sigma}\hat{\pi}_p^{(i-1)}}{\tilde{x}^{(i)}} - \hat{\sigma}\pi' + \frac{(1-\alpha)A^{(i)}}{\tilde{x}^{(i)}} - \frac{2}{3}C'(x^{(i)} - x_s^{(i)}) = 0 \quad (7)$$

где через $\tilde{y}^{(i)}$ обозначен относительный объем, соответствующий искомому квазистационарному состоянию, то есть начальное значение $y^{(i)}(t_p^{(i)})$, фигурирующее в решении (5). Из (7) следует, что это начальное значение равно

$$\tilde{y}^{(i)} = y_s - \frac{3\sigma\pi' + 2C'(y_s - \alpha A^{(i)})}{4C'} + \sqrt{\frac{[3\sigma\pi' + 2C'(y_s - \alpha A^{(i)})]^2}{16C'^2} + (y_s - \alpha A^{(i)})(y_p^{(i-1)} - y_s)} \quad (8)$$

$$i = 1, 2, 3, \dots$$

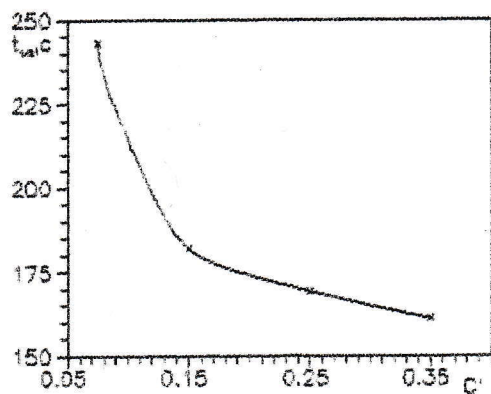


Рис.3 Зависимость времени, за которое из эритроцита выбрасывается половина гемоглобина от параметра C' .

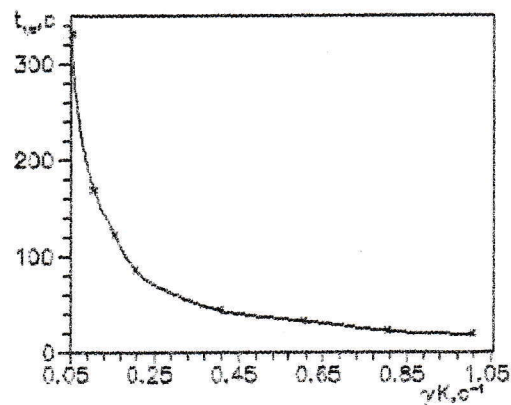


Рис.4 Зависимость времени, за которое из эритроцита выбрасывается половина гемоглобина от параметра γ_K .

выбрасываемого из клетки наружу при образовании каждой макроскопической поры, уменьшается с ростом параметра C' и увеличивается с ростом коэффициента проницаемости K . С течением времени на этапе гемолиза во всех случаях уменьшаются частота выбросов внутриклеточного содержимого из клетки и вызванные этим изменения объема эритроцита.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Козлов М.М., Маркин В.С. // Биол. мембраны. 1984. Т.1, N1. С.74-78.
2. Гордиенко Е.А., Пушкарь Н.С. Физические основы низкотемпературного консервирования клеточных суспензий. К.Наук.думка, 1994. 143с.