

УДК 577.37

Վ. Բ. ԱՐԱԿԵԼՅԱՆ, Կ. Տ. ԱՐԱՄՅԱՆ, Ա. Վ. ԱՐԱԿԵԼՅԱՆ, Վ. Մ. ԱՐՍՏԱՄՅԱՆ

ОСМОТИЧЕСКИЙ ЛИЗИС ВЕЗИКУЛ ПРИ НАЛИЧИИ ТРАНСМЕМБРАННОЙ РАЗНОСТИ ПОТЕНЦИАЛОВ

В статье выведена формула свободной энергии растянутой мембраны везикулы, на которой имеется трансмембранная разность потенциалов и цилиндрическая пора. Показано, что наличие трансмембранной разности потенциалов резко уменьшает критическое растяжение в мембране, перепад давления и разность концентраций осмотически активных веществ, что облегчает образование поры. Показано, что минимальный радиус поры не зависит от трансмембранной разности потенциалов.

Введение. Клеточные мембраны являются универсальными надмолекулярными структурами, главная функция которых – барьерная. Мембрана отделяет содержимое клетки от внешней среды. Потеря барьерной функции немедленно приводит к гибели клетки. Одной из наиболее распространенных причин гибели клетки является ее осмотический лизис. Этой проблеме посвящено большое число экспериментальных [1–5] и теоретических работ [6–9]. Исследование лизиса на живой клетке является достаточно сложной задачей, и полученные результаты, как правило, не поддаются однозначному объяснению. По этой причине для экспериментального и теоретического исследования проблемы осмотического лизиса часто используется модельная система – липидные везикулы. Полученные на этом объекте результаты с теми или иными оговорками используются при объяснении механизма лизиса реальных клеточных мембран. Теоретически наиболее детально исследован лизис липидных везикул в работе [7]. Однако в ней он рассматривается в условиях отсутствия трансмембранной разности потенциалов, хотя очевидно, что в реальной клеточной системе она всегда имеет место. Данная работа посвящена исследованию влияния этой разности потенциалов на осмотический лизис липидных везикул.

Теоретическая часть. Рассмотрим везикулу, внутри которой концентрация осмотически активного вещества (ОАВ) выше, чем в наружной среде. Поскольку вода свободно проходит через липидную мембрану [10], то в начальный момент времени внутрь везикулы будет направлен осмотический поток воды. Это обстоятельство приведет к тому, что мембрана везикулы

растянется, т.е. площадь поверхности мембраны увеличится на ΔS по сравнению с ее равновесной площадью S_0 , и в ней возникнут механические напряжения. Эти напряжения приведут к тому, что внутри везикулы появится избыточное, по отношению к наружной среде, давление ΔP , которое будет препятствовать осмотическому потоку воды внутрь везикулы. И когда это давление сравнится с осмотическим, поток воды прекратится, а мембрана окажется растянутой. Растянутая мембрана обладает упругой энергией. В работе [7] эта энергия была рассчитана в рамках модели, где мембрана представлялась двумерной упругой изотропной средой.

Для учета влияния трансмембранной разности потенциалов на осмотический лизис везикул примем трехмерную модель мембраны, а именно, представим ее в виде анизотропного сферического слоя толщиной h . Упругие свойства поперек мембраны отличаются от упругих свойств в ее плоскости, где эти свойства изотропны. Осмотическое давление приводит к тому, что поперек мембраны будут действовать сжимающие напряжения. Для достаточно больших везикул эти напряжения много меньше, чем растягивающие напряжения, действующие в плоскости мембраны. По этой причине будем учитывать изменение площади поверхности мембраны и пренебрегать изменением толщины. При сделанных допущениях легко показать, что упругая энергия растянутой мембраны равна

$$\Phi_s = Y_{\square} h \frac{(\Delta S)^2}{S_0}, \quad (1)$$

где Y_{\square} – модуль Юнга, характеризующий упругие свойства в плоскости мембраны. Из (1) видно, что появление сквозной поры в мембране уменьшает ΔS , а следовательно и упругую энергию. Однако появление поры связано с затратой энергии на ее образование. Принимая во внимание, что пора является цилиндром с радиусом r , можно показать, что энергия образования поры равна [11]

$$\Phi_p = 2\pi r h \sigma_p, \quad (2)$$

где σ_p – энергия, необходимая для создания единицы площади цилиндрической поры. Если учесть, что на мембране имеется разность потенциалов φ , то, согласно [12], изменение свободной энергии мембраны при появлении на ней одной сквозной цилиндрической поры равно

$$\Phi_{\varphi} = -\pi r^2 \frac{C\varphi^2}{2}, \quad (3)$$

где $C = \frac{\varepsilon_0(\varepsilon_w - \varepsilon_m)}{h}$, а ε_0 , ε_w , ε_m – диэлектрические проницаемости вакуума, воды и мембраны соответственно. Сложив (1), в которой учтем образование сквозной цилиндрической поры радиуса r , с (2) и (3), получим окончательное выражение для свободной энергии растянутой мембраны везикулы с трансмембранной разностью потенциалов:

$$\Phi = Y_{\square} h \frac{(\Delta S - \pi r^2)^2}{S_0} + 2\pi r h \sigma_p - \pi r^2 \frac{C\varphi^2}{2}. \quad (4)$$

Если обозначить $Y_{\square}h = \tilde{A}$ и $\sigma_p h = \gamma$ и принять $\varphi = 0$, то выражение (4) в точности переходит в аналогичное выражение из работы [7]. Из (4) также видно, что при появлении поры первое и третье слагаемые уменьшают, а второе увеличивает свободную энергию системы. В зависимости от начального растяжения ΔS и величины трансмембранной разности потенциалов φ свободная энергия как функция радиуса поры может иметь разный вид – от монотонно возрастающей функции до кривой с минимумом, указывающим на то, что на везикуле возможно образование квазиравновесной поры. Используя (4), можно показать, что величина критического растяжения, которое приводит к разрыву мембраны и появлению на ней поры, равна

$$\Delta S^* = S_0 \left[\frac{3}{4} \left(\frac{\gamma}{Y_{\square}hR_0} \right)^{2/3} - \frac{C\varphi^2}{4Y_{\square}h} \right], \quad (5)$$

где R_0 – равновесный радиус везикулы. Можно показать также, что минимальный радиус поры равен

$$r^* = R_0 \left(\frac{\gamma}{Y_{\square}hR_0} \right)^{2/3}. \quad (6)$$

Используя (5), легко вычислить значение критического перепада давлений между внутренним объемом везикулы и внешней средой ΔP^* , который приводит к появлению поры:

$$\Delta P^* = \frac{Y_{\square}h}{R_0} \left[3 \left(\frac{\gamma}{Y_{\square}hR_0} \right)^{2/3} - \frac{C\varphi^2}{Y_{\square}h} \right]. \quad (7)$$

Разделив (7) на RT (R – газовая постоянная, T – абсолютная температура), можно получить критическую разность концентраций ОАВ Δc^* , при которой на везикуле появляется пора:

$$\Delta c^* = \frac{Y_{\square}h}{RTR_0} \left[3 \left(\frac{\gamma}{Y_{\square}hR_0} \right)^{2/3} - \frac{C\varphi^2}{Y_{\square}h} \right]. \quad (8)$$

Результаты и их обсуждение. Анализ выражения (4) показывает, что наличие трансмембранной разности потенциалов на мембране везикулы облегчает образование поры. Известно [7], что при $\varphi = 0$ и малых значениях начального растяжения зависимость свободной энергии (4) от радиуса поры монотонно возрастает. И только при некотором критическом растяжении на кривой зависимости свободной энергии от радиуса поры появляется минимум, который отделен от значения свободной энергии при $r = 0$ энергетическим барьером. Как видно из (4), наличие трансмембранной разности потенциалов приводит к тому, что глубина минимума увеличивается, а высота барьера уменьшается. При дальнейшем увеличении потенциала минимальное значение свободной энергии может стать отрицательным. Анализ (4) показывает, что на монотонных кривых, для которых величина растяжения недостаточна для образования минимума, при некотором значении потенциа-

ла минимум появляется, что указывает на возможность существования квазиравновесных пор в мембране. Таким образом, из полученных результатов (5), (7) и (8) следует, что трансмембранная разность потенциалов приводит к резкому уменьшению критических растяжений, перепада давления и критической разности концентраций ОАВ, при которых возникают поры в везикуле. Отметим также, что, как видно из (6), минимальный радиус поры не зависит от трансмембранной разности потенциалов.

ЕГУ, ЕрФИ, АрГУ

Поступила 24.09.2007

ЛИТЕРАТУРА

1. **Ponder E.** Red cell structure and its breakdown. Wien: Springer, 1955, p.11–153.
2. **Miller C., Racker E.C.** – J. Membrane Biol., 1976, v. 30, № 3, p. 283–295.
3. **Cohen F.S., Zimmerberg J., Finkelstein A.** – J. Gen. Physiol., 1980, v. 75, № 2, p. 251–260.
4. **Ertel A., Marangoni A.G., Marsh J., Hallett F.R., Wood J.M.** – Biophysical J., 1993, v. 64, № 2, p. 426–434.
5. **Hallett F.R., Marsh J., Nickel B.G., Wood J.M.** – Biophysical J., 1993, v. 64, № 2, p. 435–442.
6. **Taupin C., Dvolaitzky M., Sauterey C.** – Biochemistry, 1975, v. 14, № 21, p. 4771–4775.
7. **Koslov M.M., Markin V.S.** – J. Theor. Biol., 1984, v. 109, p. 17–39.
8. **Гордиенко Е.А., Гордиенко О.И.** – Криобиология, 1986, № 2, с. 23–25.
9. **Karateki E., Sandre O., Guitouni H., Borghi N., Puech P.** – Biophysical J., 2003, v. 84, № 3, p. 1734–1749.
10. **Jensen M., Blume A.** – Biophysical J., 1995, v. 68, № 3, p. 997–1008.
11. **Glaser R.W., Leikin S.L., Chernomordik L.V., Pastushenko V.F., Sokirko A.I.** – Biochim. Biophys. Acta, 1988, v. 940, № 2, p. 275–287.
12. **Melikyan G.B., Matinyan N.S., Arakelian V.B.** – Biochim. Biophys. Acta, 1990, v. 1030, № 1, p. 11–15.

Վ. Բ. ԱՌԱՔԵԼՅԱՆ, Կ. Ս. ԱՐԱՄՅԱՆ, Հ. Վ. ԱՌԱՔԵԼՅԱՆ, Վ. Մ. ԱՌՈՒՏԱՍՄՅԱՆ

ՎԵՉԻԿՈՒԼՆԵՐԻ ՕՍՄՈՏԻԿ ԼԻՉԻՍԸ ՊՈՏԵՆՑԻԱԼՆԵՐԻ ԱՆԴՐԹԱՎԱՆԹԱՅԻՆ ՏԱՐԲԵՐՈՒԹՅԱՆ ԱՌԿԱՅՈՒԹՅԱՆ ԺԱՍՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ստացված է վեզիկուլի ձգված թաղանթի ազատ էներգիայի բանաձևը, պոտենցիալների անդրթաղանթային տարբերություն և գլանային ծակոտի ունեցող թաղանթի վրա: Ցույց է տրված, որ պոտենցիալների անդրթաղանթային տարբերության առկայությունը հեշտացնում է ծակոտու առաջացումը թաղանթում: Կտրուկ փոքրանում են թաղանթի կրիտիկական ձգվածությունը, ճնշման փոփոխության և օսմոտիկ ակտիվ նյութի կոնցենտրացիայի տարբերության արժեքները, որոնց դեպքում առաջանում է ծակոտի: Ցույց է տրված, որ ծակոտու մինիմալ շառավիղը կախված չէ պոտենցիալների անդրթաղանթային տարբերությունից:

V. B. ARAKELYAN, K. S. ARAMYAN, H. V. ARAKELYAN, V. M. ARUSTAMYAN

OSMOTIC LYSIS OF VESICLES IN THE PRESENCE OF
TRANSMEMBRANE POTENTIAL DIFFERENCE

Summary

The free energy of vesicle stretched membrane, on membrane which has transmembrane potential difference and cylindrical pore, was determined. It is shown that, the presence of transmembrane potential difference makes the formation of pore easier. Critical expansion of membrane, pressure drop and difference of osmotic active substance, in the presence of which pore is forming, sharply reduced. It is shown that minimal radius of pore does not depend on transmembrane potential difference.