

МЕХАНИЧЕСКИЕ НАПРЯЖЕНИЯ В МЕМБРАНАХ ЭРИТРОЦИТОВ (ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ)

© 2017 г. П.В. Мокрушников

Научно-исследовательский институт биохимии, 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2;

Новосибирский государственный архитектурно-строительный университет,
630008, Новосибирск, ул. Ленинградская, 113

E-mail: pwt64@ngs.ru

Поступила в редакцию 09.03.16 г.

После доработки 11.08.16 г.

Обсужден вид механических напряжений в мембранах эритроцитов, вызванных воздействием катехоламинов и стероидных гормонов. Получены тензоры механических напряжений и смещений в мембране при ее взаимодействии с гормонами. Обсуждается возможный механизм разрыва мембран под действием механических напряжений. При воздействии катехоламинов и андрогенов происходит увеличение микровязкости мембран, в липидном бислое мембран возникают чередующиеся участки сжатия и растяжения («шахматная доска»). В зонах растяжения происходит уменьшение толщины мембраны (переход «смектик А → смектик С»). При дальнейшем увеличении растягивающих напряжений, когда они превышали некоторое критическое значение, мембрана могла лопнуть. Возможно, перед разрывом в зоне растяжения липидного бислоя происходил переход «гель-фаза $L_{\beta'}$ → жидкокристаллическая фаза L_{α} ». Плотность липидного бислоя при этом уменьшалась, образовывались поры, затем образовывались трещины.

Ключевые слова: плазматические мембраны, стероидные гормоны, катехоламины, механические напряжения в мембранах.

Катехоламины (адреналин, норадреналин) действуют на клетки-мишени через адренорецепторы, локализованные на плазматической мембране [1]. Предполагается, что они присутствуют и на плазматических мембранах эритроцитов и связаны со спектрин-актин-анкириновой сетью [2]. Стероидные гормоны (кортизол, тестостерон, андростерон) также могут связываться с адренорецепторами в плазматической мембране [3]. Связывание гормонов с рецепторами клетки играет важную роль в регуляции экспрессии генов [4]. Гормоны стресса (кортизол, адреналин, норадреналин) в организме участвуют в усилении энергетического обмена. В этом заключается их основная роль в реализации различных механизмов адаптации в экстремальных условиях существования. Данная функция гормонов сегодня хорошо изучена [5]. Однако существуют и «негеномные» эффекты воздействия этих гормонов на клетки [3].

Быстрые («негеномные») эффекты гормонов, не связанные с их действием через рецепторный аппарат клетки, были описаны ранее [6]. Было показано, что они могут осуществляться путем непосредственного взаимодействия с клеточной мембраной (мембрано-интер-

каляционная модель) [7]. Этот механизм действия катехоламинов и стероидных гормонов проверялся на мембранах эритроцитов. Было показано, что катехоламины и стероидные гормоны, связываясь с белками и липидами мембран, увеличивали микровязкость мембран, происходило изменение морфологии эритроцитов и увеличение складчатости поверхности мембран эритроцитов [8–10]. Увеличение микровязкости мембран, в свою очередь, влияло на активность Na^+, K^+ -АТФаз плазматических мембран эритроцитов. Зависимость ферментативной активности от концентрации гормонов имела куполообразную форму [11,12]. Исследовались теоретические и экспериментальные модели прохождения эритроцитов по капиллярам [13–15]. Экспериментально было показано на примере перфузии изолированного сердца крысы, что обработанные адреналином эритроциты вызывают стаз сердца. Это явление опять же можно объяснить большим (до 40%) увеличением микровязкости мембран эритроцитов, увеличением жесткости цитоскелета, что в совокупности ведет к затруднениям деформации эритроцитов и препятствует их прохождению по микрокапиллярной сети [15].

Увеличение микровязкости мембран при взаимодействии их с гормонами является результатом увеличения гидрофобных взаимодействий и увеличения сил Ван-дер-Ваальса между молекулами мембран, что подтверждается данными ИК-спектроскопии [8,9]. Увеличение взаимодействий между молекулами мембран сопровождалось изменением поля механических напряжений в мембране. Необходимо обобщить экспериментальные результаты об этих полях.

В данной работе представлена теоретическая модель распределения механических напряжений и вектора смещений молекул в мембране эритроцита. Обсуждается возможный механизм разрыва мембраны.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Какие механические напряжения существуют в мембране эритроцита? Как они меняются при взаимодействии мембраны, например, с гормонами? Прямых экспериментальных данных нет. Можно предложить следующую модель. Спектрин-актин-анкириновая сеть состоит из белковых нитей, в которых существуют напряжения сжатия. Эта сеть крепится к белкам мембраны изнутри клетки. Точки крепления образуют сеть из треугольных ячеек со стороной 100 нм [16]. Прикрепленный к мембране, этот цитоскелет создает радиальное внешнее давление P_c , приложенное к внутренней поверхности мембраны (со стороны гемоглобина) и направленное к центру клетки. Величина этих напряжений вдоль мембраны может меняться. Кроме того, существует разность давлений между внутренней и внешней средой клетки $\Delta P = P_{in} - P_{out}$, обусловленная разностью гидродинамического и осмотического давлений жидкости внутри клетки P_{in} и снаружи P_{out} . В обычных условиях P_{in} немного больше P_{out} , так что $\Delta P > 0$ и клетка раздувается. Не дает раздуваться клетке давление спектрин-актин-анкириновой сети P_c , направленное в другую сторону, к центру клетки. Нормальное к поверхности мембраны давление можно приблизительно представить в виде суммы константы P_0 и переменной по координатам величине.

В пользу этих предположений говорят следующие факты. При уменьшении осмотического давления внешней среды, когда она становилась гипотонической, величина ΔP становилась очень большой, клетка сначала раздувалась, затем мембрана лопалась (гемолиз эритроцитов). Гемоглобин вытекал во внешнюю среду. Цитоскелет не повреждался, но эритроцит после этого терял форму, становясь похожим на сдутый воздушный шарик, превращался

в «тень». Это говорит о том, что сам по себе цитоскелет не может сохранять нормальную форму клетки. При увеличении осмотического давления внешней среды, когда она становилась гипертонической, значение ΔP было меньше нуля и клетка подвергалась сжатию, превращаясь в эхиноцит.

Из этой модели следует, что в мембране преобладают напряжения сжатия. Только эти напряжения могут обеспечить долгую жизнь мембраны, ибо преобладание растягивающих напряжений ведет к разрушению мембраны.

При взаимодействии стероидных гормонов (кортизола, тестостерона, андростерона) и катехоламинов (адреналина, норадреналина) с мембранами клеток происходит связывание гормонов и с белками и с липидами мембран. Возникает упорядочивание структуры мембранных белков и липидного бислоя [8,9]. При переходе от любого беспорядка к порядку объем всегда уменьшается, например, при переходе «беспорядочный клубок \rightarrow α -спираль» или «беспорядочный клубок \rightarrow β -структура» объем белков уменьшался.

При увеличении доли α -спиралей в мембранных белках увеличиваются гидрофобные взаимодействия между белками и окружающими их липидами [17]. Кроме этого, при взаимодействии гормонов с биологической мембраной увеличивалась интенсивность полосы поглощения 1740 см^{-1} (C=O-связь сложноэфирной группы фосфолипидов), а также наблюдался ее сдвиг в коротковолновую область. Увеличение интенсивности C=O-связи отражает увеличение упорядоченности фосфолипидов в мембране. Сдвиг в коротковолновую область данной полосы обусловлен образованием водородной связи между OH-группой гормонов и C=O-связью фосфолипидов. Сдвиг полос поглощения $1088 \rightarrow 1098 \text{ см}^{-1}$ и $1236 \rightarrow 1248 \text{ см}^{-1}$ в коротковолновую область связан с процессом дегидратации фосфолипидов в результате увеличения их упорядоченности, так как процесс гидратации приводит к сдвигу данных полос в длинноволновую область. Увеличение интенсивности полос 1098 и 1247 см^{-1} (P-O-C- и P=O-связи фосфолипидов соответственно) относительно контрольных образцов подтверждает повышение упорядоченности фосфолипидов под влиянием гормонов [8,9]. Белки и окружающие их липиды образовывали домены, в которых плотность молекул липидов была повышена, существовало повышенное гидростатическое давление, и молекулы мембранной воды вытеснялись на периферию доменов в зоны растяжения [10]. На границах доменов молекулы воды увеличивали расстоя-

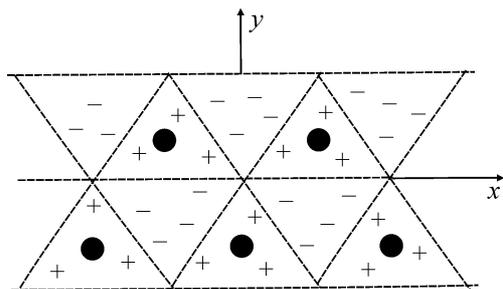


Рис. 1. Области сжатия и растяжений биомембраны. Объемные силы разбивают мембрану на области в форме равносторонних треугольников со стороной $\frac{4\pi}{k\sqrt{3}}$. В каждом из них происходит либо сжатие (+), либо растяжение (-). Области сжатия образуются вокруг мембранных белков, прикрепленных к спектрин-актин-анкириновой сети. Эти белки обозначены черными кружками.

ние между молекулами липидов, что приводило к появлению на границах доменов сил растяжения.

Эти четыре фактора – уменьшение объема мембранных белков, увеличение гидрофобного взаимодействия между белками и окружающими их липидами, упорядочивание липидов при их взаимодействии с гормонами и оттеснение молекул воды на периферию доменов – создавали внутри мембраны объемные силы, растягивающие и сжимающие мембрану. Исходя из экспериментальных данных, можно сделать заключение, что эти объемные силы не сосредоточены только около мембранных белков, а действуют во всей мембране. В создании сил притяжения участвуют и липиды, взаимодействующие с гормонами, в создании сил растяжения участвуют молекулы воды, оттесненные на периферию белок-липидных доменов. Текущие выражения для компонентов объемной силы должны существенно отличаться от нуля на больших расстояниях от анкиринов.

Цитоскелет не давал мембране возможность свободно расширяться или сжиматься, что вело к возрастанию внутренних механических напряжений в мембране. В белок-липидной области взаимодействия происходило наибольшее увеличение микровязкости, что соответствовало уменьшению расстояний между молекулами мембраны, находящимися в непосредственной близости от мембранного белка. Это вело к увеличению плотности мембраны и механических напряжений сжатия в мембране около мембранных белков, связанных со спектрин-актин-анкириновой сетью [8,9]. Увеличение гидрофобных взаимодействий и сил Ван-дер-Ваальса между молекулами мембран вело также к увеличению продольных напряжений сжатия

во всей мембране: $\sigma_0 < 0$. Со спектрин-актин-анкириновой сетью эти гормоны, видимо, не взаимодействовали и не вызывали увеличения напряжений сжатия сети, постоянная составляющая давления на внутренней границе мембраны ($P_0 > 0$) не менялась.

Какой вид имеют объемные силы, возникающие в мембране при ее взаимодействии с гормонами? На основании экспериментальных данных можно утверждать, что встраивание гормонов в мембрану приводит к появлению в мембране областей дополнительного механического напряжения вокруг анкиринов – белков, посредством которых мембрана эритроцита присоединяется к цитоскелету. Точки крепления образуют сеть из треугольных ячеек со стороной 100 нм [17]. Можно сделать вывод, что поле объемных сил является периодической функцией координат; при повороте декартовой системы координат на 120° , 240° , 360° и т.д. функция должна переходить сама в себя. Такую функцию можно представить в виде ряда Фурье. Для простоты расчетов можно рассмотреть не весь ряд, а приблизительно представить компоненты объемной силы, действующей на элементарный объем мембраны, в виде суммы нескольких гармонических функций:

$$\begin{cases} f_x = \sqrt{3}f_0 \left(-\cos k \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) + \cos k \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right), \\ f_y = f_0 \left(2\cos ky - \cos k \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) - \cos k \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right), \end{cases}$$

где $f_0 = \frac{EAk^2}{1-\nu^2}$, E – модуль Юнга, ν – коэффициент Пуассона, A – амплитуда вектора смещения, k – волновое число. Объемные силы разбивают мембрану на равносторонние треугольники со стороной $\frac{4\pi}{k\sqrt{3}}$. В каждом из них

происходит либо сжатие (+), либо растяжение (-) (рис. 1). Область сжатия образуется вокруг мембранного белка, прикрепленного к спектрин-актин-анкириновой сети. Эти белки обозначены на рис. 1 черными кружками.

Сделаем расчет тензоров механических напряжений и смещений в мембране при ее взаимодействии с гормонами. Будем считать мембрану плоской пластинкой из изотропного материала толщиной b . Ось OZ декартовой системы координат направим перпендикулярно срединной плоскости мембраны, оси OX и OY – вдоль этой плоскости. Считаем, что компоненты тензора напряжения $\sigma_{zz} = \sigma_{zx} = \sigma_{zy} \approx 0$ много меньше продольных внутренних напря-

жений в мембране. Уравнения равновесия будут выглядеть следующим образом:

$$\begin{cases} \frac{\partial \sigma_{xx}}{\partial x} + \frac{\partial \sigma_{xy}}{\partial y} = -f_x, \\ \frac{\partial \sigma_{yy}}{\partial y} + \frac{\partial \sigma_{xy}}{\partial x} = -f_y. \end{cases}$$

Компоненты тензора деформации:

$$\begin{aligned} \sigma_{xx} = \sigma_0 + \frac{EAk}{1-\nu^2} \times \\ \times \left(-2\nu \sin ky + \left(\frac{3}{2} + \frac{\nu}{2} \right) \times \right. \\ \left. \times \left(\operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) - \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right) \right), \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \sigma_{yy} = \sigma_0 + \frac{EAk}{1-\nu^2} \left(-2\sin ky + \left(\frac{3}{2}\nu + \frac{1}{2} \right) \left(\operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) - \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right) \right), \\ \sigma_{xy} = \frac{\sqrt{3}}{2} \frac{EAk}{1+\nu} \left(\operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) + \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right), \end{aligned}$$

где $\sigma_0 = \text{const} < 0$ обусловлена сжатием мембраны в результате увеличения гидрофобных

взаимодействий и увеличения сил Ван-дер-Ваальса между молекулами мембран.

Компоненты тензора деформации:

$$\begin{aligned} u_{xx} &= \frac{1-\nu}{E} \sigma_0 + \frac{3Ak}{2} \left(\operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) - \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right), \\ u_{yy} &= \frac{1-\nu}{E} \sigma_0 + Ak \left(-2\sin ky + \frac{1}{2} \left(\operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) - \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right) \right), \\ u_{xy} &= \frac{\sqrt{3}}{2} Ak \left(\operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) + \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right), \\ u_{zz} &= -\frac{2\nu}{E} \sigma_0 - \frac{2\nu Ak}{1-\nu} \left(-\sin ky + \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) - \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right), \\ u_{xz} &= u_{yz} = 0. \end{aligned}$$

Компоненты вектора смещения:

$$\begin{aligned} u_x &= \frac{1-\nu}{E} \sigma_0 x + \sqrt{3}A \left(-\operatorname{cosk} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) + \operatorname{cosk} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right), \\ u_y &= \frac{1-\nu}{E} \sigma_0 y + A \left(2\cos ky - \operatorname{cosk} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) - \operatorname{cosk} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right), \\ u_z &= -\frac{2\nu}{E} \sigma_0 z - \frac{2\nu Ak}{1-\nu} z \left(-\sin ky + \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x + \frac{y}{2} \right) - \operatorname{sinc} \left(\frac{\sqrt{3}}{2}x - \frac{y}{2} \right) \right). \end{aligned}$$

Полученные результаты описывают экспериментальные данные [8,9]. В зонах сжатия происходило смещение фосфолипидов к мембранному белку, связанному с цитоскелетом (рис. 1). Эти смещения описываются компонентами вектора смещения u_x , u_y . В этих зонах происходило увеличение толщины мембраны (рис. 2), что описывается вектором смещения u_z . В локальных зонах растяжения толщина мембраны уменьшалась, образовывалась «шейка» (рис. 2).

Некоторые гормоны, например кортизол, адсорбирующиеся на поверхности мембраны, но слабо взаимодействующие со спектрин-актин-анкириновой сетью, могли способствовать созданию трещин в мембране [8,9]. Образование «шейки» и разрыв мембраны возможны, если гормоны не влияли на натяжения спектрин-актин-анкириновой сети, и расстояния между трансмембранными белками, к которым крепилась спектрин-актин-анкириновая сеть, остава-

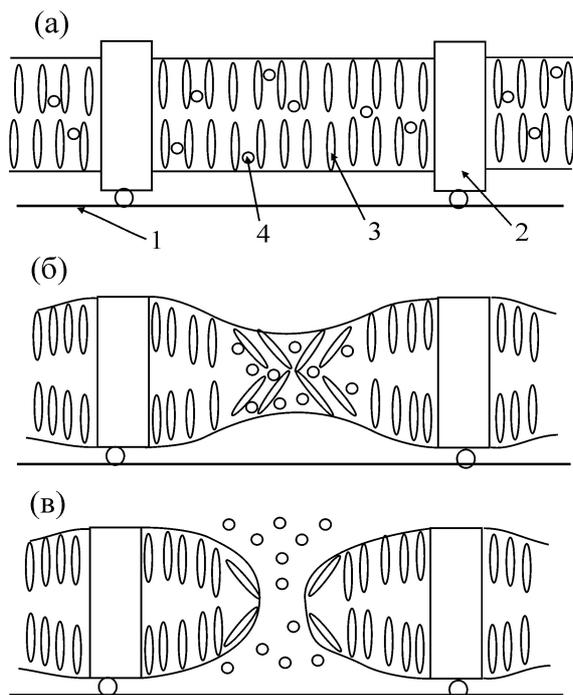


Рис. 2. Изменение структуры мембран при нагружении гормонами стресса и мужскими половыми гормонами. (а) – Ненагруженная мембрана: 1 – нити цитоскелета, к которым крепятся мембранные белки; 2 – трансмембранные белки; 3 – липиды мембраны; 4 – молекулы воды. (б) – Нагруженная мембрана, в области белок-липидного взаимодействия появились сжимающие напряжения, плотность липидов в них увеличилась. В ненагруженном состоянии молекулы воды равномерно распределены среди молекул липидов. В нагруженном состоянии они выдавливались в области растяжения, способствуя увеличению расстояния между молекулами липидов. Расстояние между трансмембранными белками, к которым крепятся нити цитоскелета, составляет примерно 100 нм. При дальнейшем увеличении сжимающих напряжений в белок-липидной области растягивающие напряжения в липид-липидной области взаимодействия создают «шейку». В области шейки происходит структурный переход «смектик А → смектик С». (в) – При дальнейшем увеличении сжимающих напряжений мембрана может лопнуть.

лись прежними. В эту область устремлялись мембранные белки, «плавающие» в липидном бислое. Вместе с трансмембранными белками и окружающими липидами они образовывали белок-липидные домены. В этих доменах плотность молекул липидов была повышена, существовало повышенное гидростатическое давление и молекулы мембранной воды вытеснялись на периферию доменов в зоны растяжения. Это подтверждается данными ИК-спектроскопии о возрастании упорядоченности липидов бислоя при его нагружении гормонами [8,9].

Возможно, что в «шейках» (мезополосах растяжения) липидного бислоя происходили переходы «смектик А → смектик С» (переход «гель-фаза L_{β} → гель-фаза $L_{\beta'}$ ») (рис. 2). Происходило уменьшение толщины мембраны на 2 нм [8,9]. При дальнейшем увеличении растягивающих напряжений, когда они превышали некоторое критическое значение, мембрана могла лопнуть (рис. 2). Перед разрывом в зоне растяжения липидного бислоя, возможно, происходил переход «гель-фаза $L_{\beta'}$ → жидкокристаллическая фаза L_{α} ». Плотность липидного бислоя при этом уменьшалась, образовывались поры, затем образовывались трещины (рис. 2).

ВЫВОДЫ

1. При взаимодействии с катехоламинами и андрогенами в мембране эритроцита возникают чередующиеся зоны механического сжатия и растяжения («шахматная доска»). Получены тензоры механических напряжений и смещений в мембране, описывающие это явление.

2. Появление зон растяжения в мембранах ведет к уменьшению толщины мембраны в этих зонах. При дальнейшем увеличении растягивающих напряжений, когда они превышали некоторое критическое значение, мембрана могла лопнуть.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. А. Ткачук, *Клиническая биохимия* (Геостар-Мед, М., 2002).
2. W. H. Nuesties and H. M. McConnell, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **57**, 732 (1974).
3. I. B. Mitre-Aguilar, A. J. Cabrera-Quintero, and A. Zentella-Dehesa, *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **8** (1), 1 (2015).
4. M. C. Farach-Carson and P. J. Davis, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **307**, 839 (2003).
5. В. И. Кулинский и Л. С. Колесниченко, *химия* **50** (4), 344 (2004).
6. D. W. Brann, L. B. Hendry, and V. B. Mahesh, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **52** (2), 113 (1995).
7. G. A. Golden, P. E. Mason, R. T. Rubin, and R. P. Mason, *Clin. Neuropharmacol.* **21** (3), 181 (1998).
8. L. E. Panin, P. V. Mokrushnikov, V. G. Kunitsyn, and B. N. Zaitsev, *J. Phys. Chem. B* **114**, 9462 (2010).
9. L. E. Panin, P. V. Mokrushnikov, V. G. Kunitsyn, and B. N. Zaitsev, *J. Phys. Chem. B* **115**, 14969 (2011).
10. L. E. Panin, P. V. Mokrushnikov, V. G. Kunitsyn, et al., *Phys. Mesomechanics* **14** (3–4), 167 (2011).
11. Л. Е. Панин и П. В. Мокрушников, *Биофизика* **59** (1), 127 (2014).
12. P. V. Mokrushnikov, L. E. Panin, and B. N. Zaitsev, *Gen. Physiol. Biophys.* **34** (3), 311 (2015).

13. В. Г. Куницын, П. В. Мокрушников и Л. Е. Панин, Сиб. науч. мед. журн. **5** (127), 28 (2007).
14. П. В. Мокрушников, Сиб. науч. мед. журн. **1** (147), 38 (2010).
15. Л. Е. Панин, П. В. Мокрушников, Р. А. Князев и др., Атеросклероз **6**, 12 (2012).
16. S.-C. Liu, L. H. Derick, and J. Palek, J. Cell Biol. **104**, 527 (1987).
17. Ю. А. Владимиров и Г. Е. Добрецов, *Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран* (Наука, М., 1980).

Mechanical Stresses in Erythrocyte Membranes (Theoretical Models)

P.V. Mokrushnikov

Research Institute of Biochemistry, ul. Timakova 2, Novosibirsk, 630117 Russia

Novosibirsk State University of Architecture and Civil Engineering, ul. Leningradskaya 113, Novosibirsk, 630008 Russia

The type of mechanical stresses in the membranes of red blood cells caused by the effects of catecholamines and steroid hormones is discussed. Tensors of mechanical stresses and displacement in the membrane during its interaction with hormones are obtained. A possible mechanism of membranes rupture under mechanical stresses is discussed. Under the action of catecholamines and androgens microviscosity of membranes increases, in lipid membrane bilayer the alternating kink and stretching sites (resembling a “chessboard”) appear. The membrane thickness at stretching site becomes thinner (“smectic A \rightarrow smectic C” transition). With further increase in tensile stresses when they exceed a certain critical value, the membrane could burst. Perhaps before disruption at the stretching site in the lipid bilayer there was a “gel phase $L_{\beta'}$ \rightarrow liquid crystalline phase L_{α} ” transition. The density of the lipid bilayer thus decreased, the pores are formed and then the formation of cracks occurred.

Key words: plasma membranes, steroid hormones, catecholamines, mechanical stresses in membranes