

УДК 577.3

КАК РЕГУЛИРУЕТСЯ ОБЪЕМ ЭРИТРОЦИТА, ИЛИ ЧТО МОГУТ И ЧЕГО НЕ МОГУТ МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ В БИОЛОГИИ

© 2009 г. Ф. И. Атауллаханов¹⁻³, Н. О. Корунова², И. С. Спиридонов², И. О. Пивоваров³,
Н. В. Калягина⁴, М. В. Мартынов²

¹Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, 119991 Москва, ул. Косыгина, д. 4;
факс: +7 (495) 938 25 33; электронная почта: fazly@hc.comcor.ru

²Гематологический научный центр РАМН,
125167, Москва, Новый Зыковский проезд, д. 4а; факс: +7 (495) 612 55 31

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет,
119991 Москва, ГСП-1; факс: +7(495)932-88-20

⁴Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана,
105005 Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5; факс: +7 (499) 267-48-44

Поступила в редакцию 31.01.2009 г.

В работе рассмотрены современные представления о регуляции объема эритроцита. Показано, как система ионных насосов и каналов в мембране клетки обеспечивает заданный объем клетки и его стабилизацию с точностью порядка 10% при 5–7-кратных изменениях пассивной проницаемости мембраны. Особое внимание уделено роли математических моделей в понимании участия разных механизмов в общей регуляции объема. Показано, что в таких сложных многоуровневых системах регуляции, как контроль величины объема клетки, ответы на многие вопросы, например, почему Na^+ , K^+ -насос клетки переносит ионы навстречу друг другу, зачем нужны Ca^{2+} -активируемые K^+ -каналы и др., невозможно получить без адекватных математических моделей процесса.

Ключевые слова: эритроцит, Na^+ , K^+ -насос, Ca^{2+} -активируемые K^+ -каналы, объем клетки, математические модели.

Ионная асимметрия клеток, т.е. тот факт, что концентрации ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} внутри клеток сильно отличаются от концентраций во внеклеточных жидкостях, известна очень давно [1]. Существовали и существуют разные объяснения этому феномену [2]. Очень естественным кажется предположение, что такая асимметрия обеспечивает чувствительность клеток к повреждениям [3–5]. Другое предположение, бесспорное по отношению к электровозбудимым клеткам, – это утверждение, что ионная асимметрия нужна для генерации электрического потенциала и обеспечения электрической активности клеток [6–9]. Еще вариант: наличие градиента ионов позволяет осуществлять активный транспорт различных полезных веществ в клетку [10–12]. Каждое из этих предположений разумно по отношению к одним типам клеток и может быть оспорено по отношению к другим. Однако ионная асимметрия существует во всех без исключения клетках. Более того, концентрации одновалентных катионов практически одинаковы во всех типах клеток [1].

Такое удивительное единообразие заставляет думать, что ионная асимметрия является элементом одной из самых базовых систем клетки. В последние годы стало ясно, что это действительно

так, поскольку любая клетка состоит из множества молекул, которых нет в окружающей среде, а эти молекулы создают избыточное осмотическое давление внутри клетки, то клетки должны противостоять осмосу и контролировать свой объем. Это такая же базовая задача для любой клетки, как, например, обеспечение клетки энергией. Впервые идея о том, что ионная асимметрия связана с осморегуляцией, встречается, по-видимому, в работе Гостесона, опубликованной в 1959 г. [13]. Более обстоятельно она описана Гостесоном и Хоффманом в 1960 г. [14]. С тех пор прошло почти полвека, и мы, наконец, стали понимать, что необходимость поддерживать постоянство объема клетки возникает одновременно с появлением в процессе эволюции самых первых клеток. И для этого природа изобрела ионные насосы, специальные каналы и ряд других замечательных систем, которые дают клетке фантастическую устойчивость и автономность. Мы еще далеки от полного понимания всей картины, однако уже то, что мы знаем, открывает стройную и красивую многоуровневую систему регуляции объема клетки. Лучше всего эта регуляция изучена на эритроцитах млекопитающих, поэтому в

Таблица 1. Электролитный состав (мг-экв/л H₂O) оксигенированного эритроцита и плазмы крови

Электролиты	Эритроциты	Сыворотка крови	Плазма крови
Катионы			
Na ⁺	23.0	152	152.9
K ⁺	143.7	4.7	5.7
Mg ²⁺	8.4	2.5	3.3
Ca ²⁺	6 × 10 ⁻⁵	4.7	5.6
Всего катионов	175.1	163.9	167.5
Анионы			
HCO ₃ ⁻	16.0	27.4	31.9
Cl ⁻	71.0	110.7	108.9
HPO ₄ ²⁻	1.0	2.2	2.2
SO ₄ ²⁻	–	–	1.3
2,3-ДФГ	34.2	0	0
Органические фосфаты без 2,3-ДФГ	11.7	0	–
Органические кислоты	–	–	5.7
Белки	35.0	19.0	17.5
Не идентифицировано	6.2	5.6	–
Всего анионов	175.1	163.9	167.5

этой статье в центре внимания будет регуляция объема в эритроцитах человека.

В ходе исследований того, как регулируется объем клетки, важную роль сыграло использование математических моделей [15–21]. Модели помогли получить ответы на целый ряд вопросов, на которые экспериментально ответить или очень трудно, или даже невозможно, предсказали ряд неожиданных связей в метаболизме клетки и помогли понять, зачем клетке нужны некоторые, на первый взгляд бессмысленные, биохимические реакции.

Математическое моделирование в последние годы становится модным занятием. В то же время подавляющее большинство серьезных биологов относятся к математическим моделям пренебрежительно. И то и другое имеет свои резоны. С одной стороны, огромное количество математических описаний разных биологических систем просто переложило уже известные биологам факты на математический язык и не дало никакого нового знания. С другой стороны, из общих соображений и по аналогии с развитием физики и химии ясно, что глубокое понимание сложных систем вряд ли возможно без применения серьезной математики. Ряд впечатляющих примеров эффективно использования математических моделей мы

имеем и в биологии. Достаточно вспомнить, какое огромное влияние на развитие науки оказало создание знаменитой теперь модели Ходжкина–Хаксли, описавшей механизм электрического возбуждения нервной клетки [22]. Но важнее то, что в разных областях биологии уже накоплен заметный положительный опыт применения математических моделей, который позволяет делать некоторые общие заключения. Это дает нам повод рассмотреть на примере исследования регуляции ионного гомеостаза и объема клетки вопрос о том, что в принципе могут дать математические модели для понимания работы сложной биологической системы, в чем они незаменимы, а в каких задачах практически бесполезны.

В 1957 году Й.Х. Скоу была открыта Na⁺,K⁺-АТФ-аза [23]. Это открытие дало естественную биохимическую основу для понимания природы электровозбудимости клеток. К тому времени уже было понятно, что трансмембранная разность потенциалов необходима для формирования и распространения нервного импульса, для сокращения мышечных клеток [8, 11]. Поскольку Na⁺,K⁺-АТФ-аза переносит одновалентные катионы через мембрану, она тем самым обеспечивает формирование ионных градиентов [24, 25]. Это, в свою очередь, может приводить к возникновению разности потенциалов на мембране клетки [26]. И эта биологическая функция Na⁺,K⁺-АТФ-азы настолько естественна и понятна, что на многие годы заслонила главную функцию этого трансмембранного насоса. До недавних пор практически все работы, посвященные изучению этого белка, начинались с утверждения о том, что в клетке он нужен для создания ионной асимметрии и электрической разности потенциалов на мембране клетки. Однако очень быстро после открытия этого фермента стало ясно, что этот белок есть в любых животных клетках. Есть он и в клетках, которые не имеют никакой электрической активности и у которых трансмембранная разность потенциалов ничтожно мала. Именно к таким клеткам относятся и эритроциты.

Оказалось, что все животные клетки, независимо от их электрических свойств, имеют практически одинаковый внутриклеточный катионный состав, который сильно отличается от внеклеточного [1]. Как видно из табл. 1, в клетке инвертировано соотношение натрия и калия по отношению к внеклеточной среде: вне клетки много натрия и мало калия, внутри – наоборот. Таким образом, оказалось, что для существования большой трансмембранной разности потенциалов наличие Na⁺,K⁺-АТФ-азы и ионных градиентов является условием необходимым, но недостаточным. Для обеспечения электровозбудимости нужны еще специальные ионные каналы. Но зачем Na⁺,K⁺-АТФ-аза и ионные градиенты остальным клеткам?

Ответ на этот вопрос принесли исследования эритроцитов. По сути, с работ Д. Тостесона [13, 14, 27, 28], выполненных на эритроцитах, началось понимание того, что главная биологическая роль асимметричного распределения катионов между внутри- и внеклеточным пространством заключается в обеспечении осморегуляции: все клетки содержат множество веществ, которые необходимы им в процессе жизнедеятельности и не должны быть диссипированы в пространство. Только с появления у клетки оболочки, которая отделяет ее содержимое от окружающего пространства, и начинается собственно эволюция клетки [29]. Однако появление в клетке веществ, которые не проходят через мембрану, приводит к росту осмотического давления внутри клетки. Бислойная фосфолипидная мембрана – естественная клеточная стенка – выдерживает давление не более 2 кПа. Это означает, что клетка с мембраной площадью 100 мкм² механически может противостоять избыточному давлению в 1–2 мОсм, после чего мембрана должна порваться [30]. Площадь мембраны не может быстро меняться, поскольку скорость транспорта липидов мембраны и их синтез *de novo* несоизмеримо медленнее, чем изменения объема при нарушении осмотического баланса [31].

Сколько в клетке осмотически активных молекул? Грубые оценки показывают, что концентрация высокомолекулярных веществ – белков, нуклеиновых кислот и полисахаридов не превышает 5–10 мМ. Низкомолекулярные метаболиты, которые клетка старается не выпускать наружу, такие как интермедиаты разных метаболических систем, кофакторы и управляющие молекулы типа АТФ, составляют еще 20–25 мМ [32–34]. Это означает, что внутри клетки должно возникать такое избыточное давление, которому можно противостоять, либо создавая дополнительные жесткие стенки, либо уменьшая концентрацию каких-то веществ, которых много как внутри, так и снаружи. Для животных клеток природа выбрала второй путь. Жизнь, по словам “очевидцев”, зародилась в океане. Кругом оказалось много ионов натрия. Поэтому естественным было возникновение насоса, который выкачивает натрий из клетки и тем самым нормализует внутриклеточное давление. Ионные насосы есть во всех эукариотических клетках, даже в тех, которые имеют жесткую стенку, которая могла бы взять на себя всю нагрузку и необходимость в насосах бы отпала. Из этого следует, что главной функцией насоса, выкачивающего из клетки натрий, является его участие в работе осморегулирующих систем. Это приводит к возникновению ионных градиентов, которые уже в ходе дальнейшей эволюции клетка приспособливает и для решения других задач, таких как электровозбудимость, способность реагировать на повреждения и пр.

Чтобы скомпенсировать избыточное осмотическое давление белков и других полезных молекул, клетке достаточно было бы снизить концентрацию Na⁺ на 30–40 мМ. Реально же концентрация Na⁺ в клетке снижена во много раз больше. Одновременно клетка совершает, казалось бы, бессмысленную работу – закачивает внутрь ионы K⁺ практически в таком же количестве. Зачем совершать лишнюю работу по переносу ионов против двух градиентов с большими затратами энергии? Ниже мы попытаемся ответить на этот вопрос.

Еще один вопрос, связанный с регуляцией ионных потоков, имеет отношение к объему клетки. Он тесно связан с особенностями механики клеточных мембран – бислойная фосфолипидная мембрана, являющаяся основой цитоплазматических мембран всех клеток, практически нерастяжима, но очень легко изгибаема [35, 36]. Поэтому она ограничивает максимальное значение объема клетки. Чем интенсивнее клетка будет откачивать ионы, тем меньше будет ее объем. Мы стараемся ответить и на вопрос о том, каким конкретно должен быть этот объем и чем он определяется.

Ответ на последний вопрос приводит, как мы увидим ниже, к ряду новых, неожиданных вопросов. Но сначала рассмотрим, что представляет собой эритроцит.

ЭРИТРОЦИТ

Основной задачей эритроцита в организме является обеспечение органов и тканей кислородом и выведение углекислого газа. Клетка, предназначенная для выполнения данной задачи, должна иметь высокую внутриклеточную концентрацию гемоглобина, который собственно и переносит кислород, связывая его в легких и освобождая в тканях, и обладает способностью легко и быстро проходить через все области капилляров, снабжая кислородом все клетки организма. На достижение этих свойств и была направлена эволюция эритроцитов млекопитающих. В итоге эритроциты лишились практически всех систем, не связанных с основной задачей клетки: эритроциты не содержат ядра, митохондрий, рибосом, ретикулула и других клеточных органелл [37].

Основными метаболическими системами эритроцита являются системы производства энергии и защиты от окисления и тесно связанные с ними системы метаболизма основных кофакторов, таких как аденилаты, пиридиннуклеотиды и глутатион [38, 39]. Единственным источником АТФ в эритроците является гликолиз [37, 39]. Защиту от окисления осуществляют традиционные ферменты – супероксиддисмутаза, каталаза и пероксидаза [38, 39]. Основной производи-

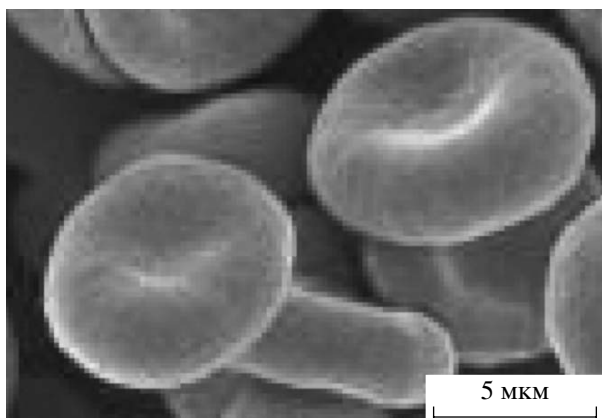


Рис. 1. Эритроцит человека. Электронная микрофотография любезно предоставлена профессором Г.И. Козинцом.

тель восстановительных эквивалентов – пентозофосфатный шунт [40].

Основной белок клетки – гемоглобин. Его концентрация примерно равна 5 мМ, что составляет 95% от всех белков клетки. Процесс связывания кислорода с гемоглобином и отдача кислорода в тканях не требует затрат энергии [32]. Помимо транспорта кислорода к тканям, эритроциты обеспечивают транспорт CO_2 из тканей в легкие. Роль гемоглобина в этом процессе невелика; в основном CO_2 транспортируется в легкие в виде аниона угольной кислоты. Для увеличения скорости установления равновесия между CO_2 и H_2CO_3 в эритроцитах имеется высокоактивная карбоангидраза [32, 41].

Мембрана эритроцита содержит 10–12 основных белков и многие десятки других, общее содержание которых относительно невелико. Интегральные белки мембраны связаны с липидным бислоем и являются гликопротеинами. Периферические белки образуют цитоскелет эритроцита [42, 43]. Липидный бислой содержит примерно равные количества холестерина и фосфолипидов.

В нормальном состоянии эритроцит имеет форму двояковогнутого диска (рис. 1) диаметром 7.5–8.7 мкм [44–46] и толщиной около 1 мкм в центре и около 2 мкм в самой толстой части [44, 47]. Площадь поверхности эритроцита равна 120–155 мкм² [47–50], объем – 84–107 мкм³ [48, 49, 51–54]. Объем эритроцита составляет примерно 60% от максимально возможного при данной площади поверхности. Именно это определяет его способность сильно деформироваться, что необходимо для прохождения через самые узкие капилляры диаметром 2–3 мкм. Объем эритроцита – величина динамическая, она зависит от баланса многих концентраций по обе стороны мембраны, которые, в свою очередь, определяются потоками ве-

ществ через мембрану клетки. Проницаемость мембраны эритроцитов для воды очень велика [55, 56]. В табл. 1 [16, 57] приведены концентрации веществ, дающих основной вклад в осмотический баланс внутри эритроцита и вне его – в плазме крови. Видно, что главный вклад вносят катионы – натрий и калий, и анионы – хлор и HCO_3^- .

Зрелый эритроцит живет в русле крови 100–120 дней [1]. В норме гибель большинства эритроцитов происходит в селезенке [58]: эритроциты продавливаются сквозь щели шириной 0.2–0.5 мкм [59], застрявшие клетки уничтожаются макрофагами [58]. Таким образом, способность регулировать объем и, как следствие, способность хорошо деформироваться и проходить через узкие капилляры являются главными критериями жизнеспособности эритроцита, а потому жестко контролируются в организме.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РЕГУЛЯЦИИ ОБЪЕМА ЭРИТРОЦИТА

Рассмотрим представления о регуляции объема, последовательно описывая все новые элементы регуляции. При этом мы ограничимся только гомеостазом ионов и его ролью в регуляции объема клетки и не будем рассматривать участие метаболических систем в этом процессе. Рассматривать всю совокупность факторов, от которых зависит объем клетки и концентрации ионов, удобно с помощью соответствующих уравнений. В 1960 году Д. Тостесон и П. Хоффман опубликовали первые математические оценки того, как распределение ионов натрия и калия в эритроцитах двух пород овец, отличающихся содержанием катионов, связаны с осморегуляцией этих клеток [14]. Они получили формулу, связывающую объем эритроцита, V , с концентрациями натрия и калия по обе стороны мембраны:

$$V = \frac{W}{([\text{Na}]_e + [\text{K}]_e + [\text{Cl}]_e) - ([\text{Na}]_i + [\text{K}]_i + [\text{Cl}]_i)},$$

где индексы i и e обозначают внутри- и внеклеточные концентрации соответственно, V – объем эритроцита, W – суммарная концентрация всех осмотически непроникающих молекул.

Модель, созданная Д. Тостесоном, хорошо описывала полученные им экспериментальные данные. Однако неточность измерений привела авторов к неправильному выводу. Они получили, что соотношение потоков Na^+ и K^+ для Na^+, K^+ -АТФ-азы равно единице. Несмотря на это, работа оказалась этапной. Авторы впервые показали, что в регуляции объема важен осмотический баланс, и этот баланс определяется потоками в основном двух ионов: это пассивные потоки ионов натрия и калия через мембрану и активный поток этих же ионов, создаваемый Na^+, K^+ -АТФ-азой.

При этом проницаемость мембраны для воды и проникающих анионов так велика, что их концентрации по обе стороны от мембраны близки к термодинамически равновесным значениям.

Несмотря на то, что работы Д. Тостесона и его группы появились в начале 60-х годов прошлого века, только в 1980 году Е. Якобссон опубликовал математическую модель [15], рассматривающую гомеостаз K^+ и Na^+ в эритроцитах и его связь с объемом в относительно современном виде. В 1983 году нашей группой была опубликована близкая, но более полная модель этих процессов. На этих двух моделях мы и будем базироваться в дальнейшем изложении [16, 21]. Основными переменными в обеих моделях были внутриклеточные концентрации катионов Na^+ и K^+ , основных анионов – хлора и HCO_3^- , объем клетки и трансмембранная разность потенциалов. Для простоты будем считать, что концентрации всех ионов вне клетки постоянны. Изменения концентраций ионов определяются изменениями объема и балансом пассивных потоков через мембрану и активных потоков, создаваемых ионными насосами.

Как показано в работе Е. Якобссона, пассивные потоки ионов в эритроцитах хорошо описываются уравнением Гольдмана [60, 61]. Для K^+ и Na^+ имеем:

$$J_K = P_K \frac{\frac{\phi F}{RT}}{\exp\left(\frac{\phi F}{RT}\right) - 1} \left([K^+]_e - [K^+]_i \exp\left(\frac{\phi F}{RT}\right) \right)$$

$$J_{Na} = P_{Na} \frac{\frac{\phi F}{RT}}{\exp\left(\frac{\phi F}{RT}\right) - 1} \left([Na^+]_e - [Na^+]_i \exp\left(\frac{\phi F}{RT}\right) \right).$$

Потоки определяют изменения содержания ионов в клетке, которое есть произведение концентрации данного иона на переменный объем клетки

$$\frac{d}{dt} \left([K^+]_i \frac{V}{V^0} \right) = \mu v_{Na, K-ATPase} + J_K \quad (1)$$

$$\frac{d}{dt} \left([Na^+]_i \frac{V}{V^0} \right) = -\eta v_{Na, K-ATPase} + J_{Na}, \quad (2)$$

где J_K и J_{Na} – пассивные потоки K^+ и Na^+ через мембрану эритроцита;

P_K и P_{Na} – пассивная проницаемость мембраны для K^+ и Na^+ , соответственно;

F – константа Фарадея;

R – универсальная газовая постоянная;

T – абсолютная температура;

ϕ – трансмембранная разность потенциалов; индексы i и e обозначают внутри- и внеклеточные концентрации, соответственно.

$v_{Na^+, K^+-ATPase}$ – скорость гидролиза АТФ Na^+, K^+ -насосом;

μ и η – число ионов K^+ и Na^+ соответственно, переносимых насосом за один акт гидролиза АТФ;

V – объем эритроцита;

V^0 – физиологически нормальное значение объема эритроцита.

В эти уравнения вошли как активные потоки, создаваемые работой Na^+, K^+ -насоса, так и пассивные потоки этих ионов через мембрану. Выберем параметры в этих уравнениях в соответствии с работой [21]:

$$P_K = 1.24 \times 10^{-2} \text{ ч}^{-1}; \quad P_{Na} = 1.22 \times 10^{-2} \text{ ч}^{-1}; \\ [K^+]_e = 5 \text{ мМ}; \quad [Na^+]_e = 145 \text{ мМ}.$$

Распределение анионов определяется только пассивными потоками этих ионов через мембрану. Известно, что мембрана эритроцитов высоко проницаема для анионов – по данным [62, 63], проницаемость мембраны для анионов составляет примерно 2 ч^{-1} , т.е. на два порядка превышает значения проницаемостей для одновалентных катионов. В основном это обусловлено большой концентрацией белка полосы III. Этот канал не селективен для двух основных анионов Cl^- и HCO_3^- [64, 65], поэтому удобно ввести новую переменную, $[A^-]$ – суммарную концентрацию анионов, проникающих через мембрану. Высокая проницаемость мембраны для анионов позволяет считать, что концентрации анионов квазиравновесны:

$$\frac{[A^-]_e}{[A^-]_i} = \exp\left(-\frac{\phi F}{RT}\right), \quad (3)$$

где $[A^-]$ – сумма концентраций проникающих анионов (Cl^- и HCO_3^-), $[A^-]_e = 150 \text{ мМ}$ [21]. Из этого уравнения следует, что анионы между внутри и внеклеточным пространством распределены в соответствии с трансмембранным потенциалом.

Необходимо также учесть уравнения, описывающие электронейтральность внутри- и внеклеточного содержимого, а также осмотический баланс между клеткой и окружающим пространством:

$$[K^+]_i + [Na^+]_i - [A^-]_i + ZW = [K^+]_e + [Na^+]_e - [A^-]_e = 0 \quad (4)$$

$$[K^+]_i + [Na^+]_i + [A^-]_i + W = \\ = [K^+]_e + [Na^+]_e + [A^-]_e = 2L = 300 \text{ мОсм}. \quad (5)$$

В этих уравнениях учтено, что в клетке есть белки, в первую очередь, гемоглобин, и низкомо-

Таблица 2. Стационарные значения внутриклеточных концентраций ионов и объема для нормальных физиологических значений параметров модели

Переменная	Теория	Эксперимент	Единицы измерения	Источники
Na ⁺	10	16.6 ± 1.6	ммоль/л клеточной воды	[24, 102]
K ⁺	130	135 ± 5.0	ммоль/л клеточной воды	[24, 102, 103]
Cl ⁻ + HCO ₃ ⁻	110	103–107	мкмоль/л клеток	[23, 102]
Внутриклеточная концентрация непроницающих анионов	50	17	мкмоль/л клеток	[23, 42]
Объем	76	84–107	мкм ³	[50–52, 55–57, 66]

лекулярные интермедиаты метаболизма, которые вносят свой вклад как в электронейтральность, так и в осмос. Для простоты в этих уравнениях предположили, что суммарная концентрация всех осмотически непроницающих молекул W , и все эти молекулы имеют один и тот же средний заряд Z . Анализ показывает, что более точный учет того, что разные непроницающие через мембрану молекулы имеют разный заряд, мало влияет на результат. По нашим оценкам [16, 21],

$$W = 45 \text{ mM}; \quad Z = -0.7.$$

Система уравнений (1)–(5) описывает изменения концентраций ионов и объема клетки как функцию таких параметров системы, как проницаемость мембраны для разных ионов, параметры Na⁺, K⁺-насоса, концентрации непроницающих ионов, осмолярность внеклеточной среды. Из этих уравнений можно получить уравнение, описывающее изменение объема клетки. Из уравнений (1)–(2) следует:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \left([K^+]_i \frac{V}{V^0} + [Na^+]_i \frac{V}{V^0} \right) = \\ = J_K + J_{Na} - (\eta - \mu) v_{Na, K-ATPase} \end{aligned} \quad (6)$$

Сумма уравнений (4) и (5) дает:

$$[K^+]_i + [Na^+]_i = L - \frac{1}{2} W(1 + Z). \quad (7)$$

Умножая уравнение (7) на V/V^0 и дифференцируя по времени, получим:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \left([K^+]_i \frac{V}{V^0} + [Na^+]_i \frac{V}{V^0} \right) = \\ = L \frac{d}{dt} \left(\frac{V}{V^0} \right) - \frac{1}{2} (1 + Z) \frac{d}{dt} \left(W \frac{V}{V^0} \right) = L \frac{d}{dt} \left(\frac{V}{V^0} \right). \end{aligned} \quad (8)$$

Преобразовав уравнение (8), используя (6), мы видим, что кинетика изменения объема клетки определяется только балансом пассивных и активных потоков катионов натрия и калия через мембрану:

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{V}{V^0} \right) = \frac{1}{L} [J_K + J_{Na} - (\eta - \mu) v_{Na, K-ATPase}]. \quad (9)$$

Скорость Na⁺, K⁺-насоса растет с ростом концентрации внутриклеточного Na⁺ примерно линейно [66], поскольку константа связывания этих ионов с внутриклеточной стороны равна 5–13 мМ [67, 68], а их концентрация равна 10 мМ (см. табл. 1). Эта скорость также зависит от концентрации АТФ и внеклеточной концентрации K⁺ [69, 70], но в рамках данного рассмотрения эти величины постоянны, так что

$$v_{Na, K-ATPase} = \alpha [Na^+] [ATP],$$

где $\alpha = 0.045 \text{ ч}^{-1} \text{ мМ}$, $[ATP] = 1.43 \text{ мМ}$ [71].

По данным работы [72], в нормальном физиологическом состоянии скорость потребления АТФ Na⁺, K⁺-АТФ-азой равна 0.6–1 ммоль/ч л клеток.

Проведенные расчеты показали, что при выбранных параметрах модель предсказывает правильные стационарные концентрации всех ионов и объема клетки (табл. 2). Это привело Якобсона к выводам, что регуляция объема клетки возможна лишь при значении мембранного потенциала ниже определенного уровня, а внутренние непроницающие ионы должны нести отрицательный заряд. Также был сделан вывод о достаточности активного удаления Na⁺ из клетки для поддержания ее объема. Показана зависимость регуляции от пассивной проницаемости мембраны для K⁺ и активного выведения Na⁺ из клетки. Главный вывод, сделанный Якобсоном и принципиально важный для дальнейшего развития этого направления, заключался в том, что соотношение пассивного и активного транспорта является определяющим для объема клетки и потенциала на ее мембране.

Несмотря на принципиальную важность качественного вывода Якобсона, количественные выводы не кажутся особенно удивительными. Эти результаты слабо зависят от конкретного вида зависимости скорости Na⁺, K⁺-АТФ-азы от концентрации Na⁺ [20] и других параметров, поскольку

ку в пределах экспериментально наблюдаемого разброса параметров всегда можно выбрать такой набор, который правильно опишет стационарное состояние клетки. На этом этапе мы просто перевели известные факты на новый язык и подобрали параметры так, чтобы эти факты описывались количественно. Точность, с которой измерены значения констант и параметров этой биологической системы, настолько невелика, что небольшим изменением констант в пределах существующего разброса легко получить вдвое отличающиеся значения объема. А диапазон изменений объема, который допускает конструкция эритроцита, невелик. Если объем увеличится более чем в 1.6 раза, эритроцит лопнет: это максимальный объем, который может быть заключен в практически нерастяжимую клеточную мембрану, имеющую площадь поверхности нормального эритроцита. Уменьшение объема вдвое также практически невозможно, ибо при этом концентрация белков в клетке возрастает настолько, что гемоглобин становится твердым, и эритроцит теряет возможность деформироваться и проходить через узкие капилляры в селезенке [73].

Эти рассуждения показывают, что объем эритроцита должен быть довольно точно отрегулирован, т.е. значения параметров, от которых зависит объем, должны быть жестко скоррелированы друг с другом. В противном случае придется предположить, что существует дополнительный механизм подстройки, который делает величину объема не столь чувствительной к параметрам системы. То, что величина объема эритроцита в организме должна быть задана даже с большей точностью, чем это следует из грубых физических ограничений, которые были рассмотрены выше, вытекает из рассмотрения движения эритроцита в кровеносной системе.

ДВИЖЕНИЕ ЭРИТРОЦИТА В УЗКИХ СОСУДАХ

Основная физиологическая задача эритроцита – транспорт кислорода – предъявляет к деформируемости этой клетки довольно высокие требования [74, 75]. Наличие гемоглобина в крови животных увеличивает примерно в 50 раз концентрацию кислорода в ней. При этом вязкость крови не должна сильно возрасти. Это накладывает серьезные ограничения на реологию эритроцита. Для полного обмена кислорода между тканями и эритроцитами в нашем организме сделаны узкие капилляры, самые мелкие капилляры имеют диаметр 2.5–3 мкм [1]. Чтобы протиснуться в такой капилляр, эритроцит должен значительно изменить свою форму [76, 77]. Поэтому скорость движения эритроцита в капилляре сильно зависит от его вязко-эластичных характеристик. На рис. 2 показано, как зависит вязкость внутриклеточного

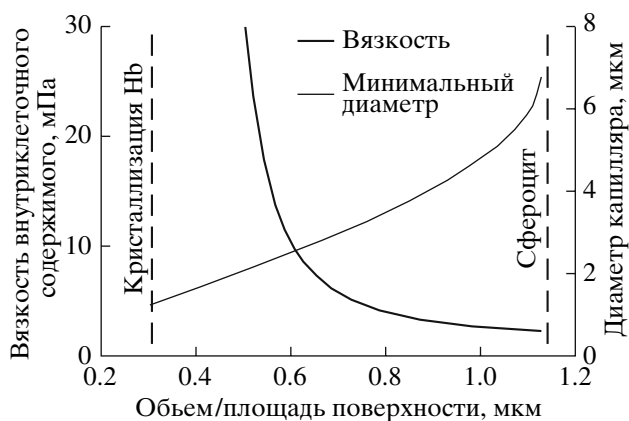


Рис. 2. Зависимость вязкости внутриклеточного содержимого эритроцита и минимального диаметра капилляра, по которому он может пройти, от отношения объема клетки к площади ее поверхности. Ниспадающая кривая показывает, как меняется вязкость внутриклеточного содержимого при изменении этого отношения. Растущая кривая показывает, как растет минимальный диаметр капилляра, через который еще может пройти эритроцит с таким отношением.

го содержимого “среднего” эритроцита от отношения объема эритроцита к его поверхности. Для этого же эритроцита рассчитан диаметр минимального капилляра, через который эритроцит еще может пройти. Мы видим, что, когда объем клетки велик, эритроциту “не хватает” поверхности, чтобы сильно изменить свою форму и втиснуться в узкий капилляр. С уменьшением объема эта проблема уменьшается, но начинает расти внутриклеточная вязкость (прежде всего из-за очень высокой концентрации гемоглобина).

Такой эритроцит может пройти через узкий капилляр, но для изменения формы ему потребуется очень много времени. В результате зависимость скорости движения эритроцита в узком капилляре от объема клетки имеет явно выраженный максимум (рис. 3). Мы видим, что уменьшение объема всего на 20% снижает скорость фильтрации эритроцитов через узкие капилляры более чем вдвое. Увеличение объема на те же 20% приведет к тому, что эритроцит застрянет в капилляре диаметром 4–5 мкм (рис. 3), тогда как эритроцит с оптимальным соотношением не сможет пройти только через вдвое более узкий капилляр. Эти данные ясно указывают, что объем эритроцита должен быть оптимальным и не должен заметно меняться ни при изменении параметров плазмы крови, ни в процессе жизни клетки. Но, может быть, параметры “среды обитания”, как и параметры самого эритроцита, крайне стабильны? Действительно, например, эритроциты очень чувствительны к осмолярности окружения. И это вполне согласуется с данными модели (1)–(5). Однако осмолярность плазмы весьма ста-

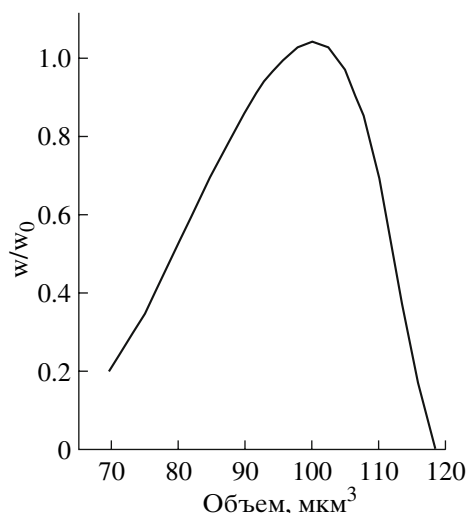


Рис. 3. Зависимость относительной скорости прохождения эритроцитов (w/w_0) через капилляр диаметром 3 мкм от объема эритроцитов.

бильна [1]. Аналогично дело обстоит и с другими параметрами среды, но не самого эритроцита.

ПАССИВНАЯ ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАНЫ КЛЕТКИ ДЛЯ КАТИОНОВ

“Ахиллесовой пятой” клетки (не только эритроцита) является проницаемость мембраны для малых молекул, в первую очередь катионов [78]. Изменение пассивной проницаемости мембраны так же сильно влияет на величину объема, как и изменение осмотичности. Но в отличие от осмотичности стабилизировать проницаемость мембраны, по-видимому, невозможно. Главной причиной значительных изменений проницаемости мембраны являются окислительные процессы. Значительная концентрация кислорода в крови, свободно-радикальный характер окислительно-восстановительных процессов, наличие в организме множества веществ, сильных провокаторов окисления – все это приводит к тому, что скорость окисления белков и липидов клеточной мембраны может варьировать в сотни раз. А окисленные липиды сильно увеличивают проницаемость мембраны для заряженных молекул [79, 80], поэтому в нормальном организме проницаемость мембраны эритроцита для ионов тоже может меняться в 5–10 раз в зависимости от питания, разнообразных стрессов, мелких очагов воспаления и прочих факторов [81, 82]. Это приводит к тому, что клетка должна не только иметь определенный объем, но и тщательно его поддерживать, т.е. клетке необходимо стабилизировать свой объем при изменениях проницаемости мембраны.

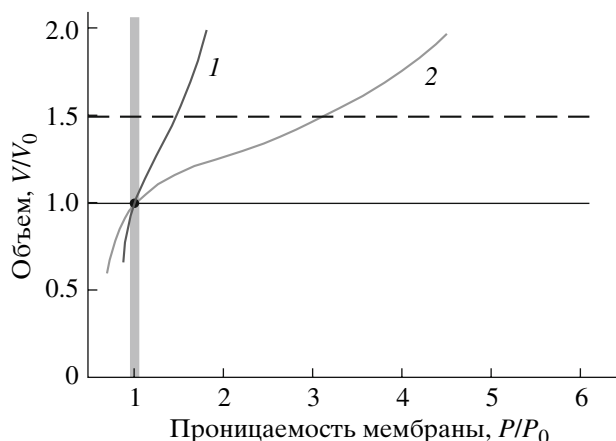


Рис. 4. Зависимость относительного изменения объема эритроцита от относительного изменения пассивной проницаемости мембраны для Na^+ и K^+ . 1 – Кривая получена в предположении, что для стабилизации объема используется гипотетический насос, который выкачивает только ионы Na^+ из клетки. 2 – Кривая получена в предположении, что для стабилизации объема используется Na^+, K^+ -насос. Здесь и далее V_0 и P_0 – объем и проницаемость мембраны эритроцита при физиологических значениях параметров.

ПРЕИМУЩЕСТВО Na^+, K^+ -НАСОСА ПО СРАВНЕНИЮ С Na^+ -НАСОСОМ В СТАБИЛИЗАЦИИ ОБЪЕМА КЛЕТКИ. ПОЧЕМУ Na^+, K^+ -АТР-аза ОБМЕНИВАЕТ ТРИ Na^+ НА ДВА K^+ ?

В начале 80-х мы задались вопросом: в чем преимущество насоса, переносящего три иона натрия наружу в обмен на два иона калия [16], так что суммарный перенос составляет один ион на молекулу АТФ? Не проще ли просто вынести один ион натрия из клетки? Математические модели очень удобны для решения таких вопросов, поскольку позволяют рассчитать ситуации, которые экспериментально нереализуемы, но могут помочь нам выявить закономерности в работе системы. Например, мы легко можем рассмотреть, что будет, если насос качает только натрий [20, 21]. Оказывается, в этом случае легко получить физиологически нормальное значение объема клетки, как и в случае насоса, качающего ионы навстречу друг другу. И никаких преимуществ встречной перекачки ионов не видно. Однако ситуация кардинально меняется, если мы рассмотрим, как каждый из этих насосов стабилизирует объем. На рис. 4 приведены зависимости изменения объема от пассивной проницаемости мембраны для ионов Na^+ и K^+ . На рис. 4 рассмотрена зависимость объема от неспецифического изменения проницаемости для обоих катионов P , т.е.

$$P_{\text{Na}} = P_{\text{Na}}^0 (1 + P);$$

$$P_{\text{K}} = P_{\text{K}}^0 [1 + (P_{\text{Na}}/P_{\text{K}})P].$$

В нормальном эритроците P_{Na} и P_K примерно равны [83, 84], поэтому параметр P характеризует неспецифическое изменение проницаемости для обоих ионов. Это наиболее типичное воздействие на эритроцит в организме, поскольку увеличение проницаемости мембраны при окислительных процессах создает неспецифичные “утечки”. Ниже мы рассмотрим, как влияют на стабилизацию объема изменения в проницаемости для каждого катиона в отдельности. Величина объема нормирована на его физиологическое значение. Пунктиром показано критическое увеличение объема, при котором эритроцит лопаётся. Мы видим, что Na^+ -насос плохо стабилизирует объем клетки [85]. Увеличение проницаемости мембраны всего в полтора раза приводит к гибели эритроцита [21]. Это явно противоречит экспериментальным данным, согласно которым проницаемость эритроцита может меняться в 5–10 раз без его лизиса [78].

Для того, чтобы количественно охарактеризовать стабилизацию объема, удобно ввести два безразмерных показателя. Первый – коэффициент стабилизации – есть величина, обратная относительной производной

$$\vartheta = \frac{V_0}{P_0} \frac{1}{\partial V} = - \left. \frac{\partial \ln V}{\partial \ln P} \right|_{P_0, V_0}$$

Для рис. 4, на котором обе переменные отложены в относительных величинах, это просто величина, обратная наклону кривой в данной точке. Чем меньше наклон кривой при данном, например физиологическом значении параметра, тем лучше стабилизация. Второй параметр – динамический диапазон стабилизации,

$$\Omega = P_{\max}/P_{\min},$$

показывает, во сколько раз может меняться параметр, прежде чем объем клетки выйдет за заданные пределы (см. рис. 4, пунктир), например, изменится не более чем на 50%.

Приведенная на рис. 4 кривая 1 иллюстрирует наилучший вариант стабилизации объема насосом, качающим только натрий, который удалось получить, варьируя практически все параметры системы. Это соответствует коэффициенту стабилизации $\vartheta = 1.0$ и динамическому диапазону 1.5. Стабилизация объема заметно улучшается, если насос создает два градиента одновременно (рис. 4, кривая 2). Коэффициент стабилизации вырос до 3.5, а динамический диапазон – в 2.2 раза. Этот расчет сделан при тех же параметрах, как и расчет для насоса, работающего с одним ионом. Наблюдаемый значительный выигрыш произошел благодаря тому, что концентрация Na^+ в клетке существенно ниже при наличии двух градиентов.

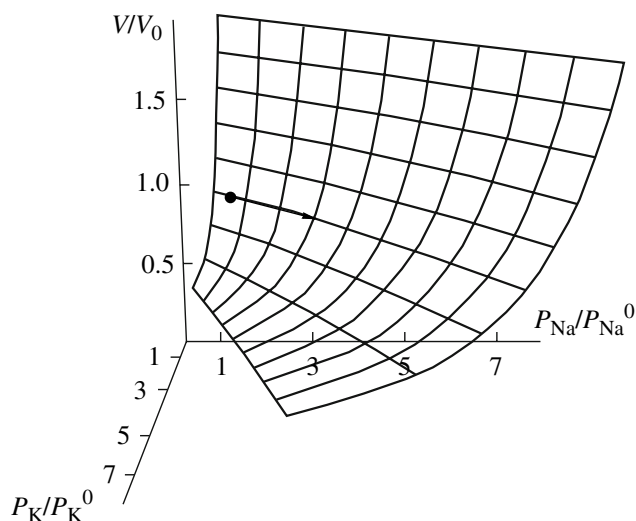


Рис. 5. Изменение объема эритроцита при независимом изменении проницаемости мембраны для Na^+ и K^+ .

В ответ на заданное изменение проницаемости мембраны концентрация натрия сильнее изменяется в модели с двумя градиентами. Значит, и скорость откачки ионов меняется заметно сильнее, и, как следствие, объем меняется меньше. Концентрация натрия является главным индикатором объема, который “указывает” насосу на необходимость изменения скорости работы. В случае Na^+ -насоса концентрация натрия в клетке не может быть снижена значительно, ибо она ограничена осмотическим балансом по обе стороны мембраны. Если же насос качает два иона навстречу друг другу, то это ограничение накладывается уже на сумму концентраций Na^+ и K^+ в клетке. При этом концентрация натрия может быть уменьшена сколь угодно сильно.

Модель позволяет не только понять, в чем преимущество встречной перекачки ионов, но и объяснить, почему насос выкачивает три иона Na^+ в обмен на два иона K^+ . На рис. 5 показано, как меняется объем клетки, если проницаемости для натрия и калия меняются независимо. Мы видим, что эти проницаемости противоположно влияют на объем: увеличение проницаемости для натрия увеличивает объем, тогда как увеличение проницаемости для калия его уменьшает. Это и понятно, поскольку градиент натрия направлен внутрь клетки, возросший пассивный поток натрия увеличивает содержание вещества в клетке, а, следовательно, и объем. С калием ситуация противоположная. И есть направление совместного изменения проницаемостей, когда объем изменяется меньше всего (рис. 5, стрелка). При физиологическом значении объема это направление совпадает с синхронным изменением проницае-

мостей для обоих катионов, т.е. именно при неспецифическом изменении проницаемостей мы имеем наилучшую стабилизацию объема. Мы рассчитали аналогичные поверхности для насосов, имеющих разное соотношение переносимых ионов [20, 21]. При этом все поверхности имеют похожий вид, но направление наилучшей стабилизации уже не совпадает с неспецифическим изменением проницаемости. Чем больше отношение Na^+/K^+ , тем большее относительное изменение проницаемости для Na^+ соответствует наилучшей стабилизации [20, 21].

Таким образом, модель показывает, что ионный насос отлично оптимизирован для стабилизации объема клетки именно против повреждающего неспецифического увеличения ее проницаемости. И этим определяется как то, что насос создает два градиента, так и то, что он переносит именно три иона натрия в обмен на два иона калия.

ВТОРИЧНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГРАДИЕНТА КАЛИЯ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ СТАБИЛИЗАЦИИ ОБЪЕМА. Ca^{2+} -АКТИВИРУЕМЫЕ K^+ -КАНАЛЫ

Возникновение большого градиента калия, направленного из клетки наружу, открывает ряд новых возможностей для клетки. И разные клетки используют эти градиенты для разных целей: одни – для создания большой разности потенциалов на мембране и становятся электровозбудимыми [7–9], другие – для создания систем, реагирующих на разнообразные внешние сигналы, в том числе повреждающие клетку [3–5]. Среди многочисленных полезных применений градиента калия мы обсудим одно, используемое в эритроците для еще большего улучшения качества стабилизации объема этой клетки в ответ на все то же неспецифическое повреждение мембраны. Как уже упоминалось, избирательное увеличение проницаемости мембраны только для калия ведет к уменьшению объема клетки. Поэтому, если создать специальный канал, пропускающий избирательно только калий, можно будет регулировать объем клетки, открывая или закрывая его. В эритроцитах такой канал есть. Увеличение потока калия из клетки в ответ на возрастание концентрации Ca^{2+} в клетке, обусловленное этим каналом, было открыто Гардосом еще в 50-е годы [86, 87]. Несколько десятилетий было непонятно, зачем клетка это делает. Свойства этого канала изучены детально [88, 89] и показано, что он открывается повышением концентрации Ca^{2+} в клетке всего в несколько раз [90] (полу-максимальная активация K^+ -каналов достигается при внутриклеточной концентрации ионов кальция 0.1–10 мкМ [91]). Эти каналы, называемые Ca^{2+} -

активируемые K^+ -каналы, будучи максимально открыты, в сотни раз увеличивают поток K^+ из клетки (с 2 до 100–1000 ммоль/ч л клеток) [90, 92, 93]. Что дает это клетке, стало понятно только тогда, когда с помощью моделей показали, что такой канал может сильно улучшить стабилизацию объема клетки [20, 21].

Попутно, кстати, мы получили ответ на еще один загадочный вопрос: почему концентрация Ca^{2+} в эритроцитах снижена на четыре порядка [94] по сравнению с его концентрацией в плазме крови? Огромный градиент Ca^{2+} существует во всех клетках и создается в результате работы Ca^{2+} -насоса, который потребляет АТФ и активно выкачивает Ca^{2+} из клетки против градиента. Возникающий градиент используется многими клетками для генерации внутриклеточного сигнала в ответ на разнообразные возбуждения. Внутриклеточный кальций справедливо принято считать одним из главных внутриклеточных вторичных мессенджеров, передающих информацию извне клетки на внутриклеточные системы. Таким образом, мы и здесь видим универсальное стремление ученых приписать сигнальные функции любым градиентам на мембране клетки. Однако долгое время оставалось непонятным, какие именно сигналы и кому передает этот градиент в эритроцитах.

Рассмотрим подробнее, как наличие Ca^{2+} -градиента и Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов влияет на регуляцию объема эритроцита. Для того чтобы учесть поток калия через эти каналы, мы должны включить в уравнение (1) еще один поток:

$$J_{CH} = P_{CH} \frac{\frac{\phi F}{RT}}{\exp\left(\frac{\phi F}{RT}\right) - 1} \left([\text{K}^+]_e - [\text{K}^+]_i \exp\left(\frac{\phi F}{RT}\right) \right),$$

$$\text{где } P_{CH} = P_{\max} \left(\frac{[\text{Ca}^{2+}]}{[\text{Ca}^{2+}] + K_{CH}} \right)^N,$$

P_{\max} – максимальная проницаемость K^+ -каналов, $P_{\max} = 1.7 \text{ ч}^{-1}$ [104–106],

N – кооперативность, $N = 4$,

K_{CH} – константа связывания для Ca^{2+} с каналами, $K_{CH} = 0.25 \text{ мкМ}$.

Это пассивный поток ионов калия, который, естественно, зависит от градиента их концентрации и разности потенциалов на мембране. Основное отличие этого потока от рассмотренного ранее пассивного потока калия – зависимость от концентрации Ca^{2+} . Эта зависимость приводит к тому, что у нас в уравнениях появляется еще одна

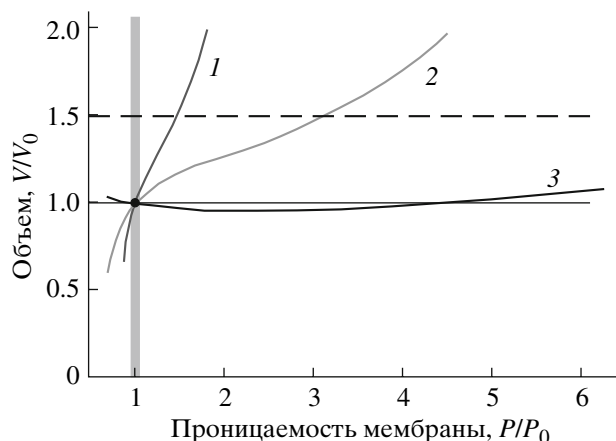


Рис. 6. Зависимость относительного изменения объема эритроцита от относительного изменения пассивной проницаемости мембраны для катионов. 1 – Кривая получена в предположении, что для стабилизации объема используется только Na^+ -насос. 2 – Кривая получена в предположении, что для стабилизации объема используется Na^+ , K^+ -насос. 3 – Кривая получена в предположении, что для стабилизации объема используются градиенты Na^+ и K^+ , создаваемые Na^+ , K^+ -АТФ-азой, а также Ca^{2+} -зависимые K^+ -каналы.

независимая переменная – концентрация кальция в клетке. Эта концентрация обычно так мала, что она практически никак не сказывается на наших балансных уравнениях (4), (5). Для изменений концентрации Ca^{2+} в клетке можно записать уравнение, аналогичное уравнениям (1) и (2) с учетом того, что ион кальция двухвалентен.

$$\frac{d}{dt}([\text{Ca}^{2+}]_i \frac{V}{V_0}) = -2\nu_{\text{Ca-ATPase}} + P_{\text{Ca}} \frac{2\frac{\Phi F}{RT}}{\exp(2\frac{\Phi F}{RT})} \times$$

$$\times ([\text{Ca}^{2+}]_e - [\text{Ca}^{2+}]_i \exp(2\frac{\Phi F}{RT})), \quad (10)$$

$$\text{где } \nu_{\text{Ca-ATPase}} = \alpha_{\text{Ca-ATPase}} \left(\frac{[\text{Ca}^{2+}]}{[\text{Ca}^{2+}] + K_{\text{Ca-ATPase}}} \right)^2,$$

$$P_{\text{Ca}} = 0.76 \times 10^{-2} \text{ ч}^{-1} [21].$$

Уравнение для внутриклеточного Ca^{2+} (10) слабо зависит от остальных уравнений нашей системы. Это влияние происходит через разность потенциалов на мембране Φ , но эта разность потенциалов обычно мала и слабо меняется. Поэтому концентрация Ca^{2+} в клетке слабо зависит от осмотичности среды, содержания белков в клетке и т.д. Кальций в этой модели ведет себя довольно автономно и мало на что влияет. Однако ситуация резко меняется, когда мы рассматриваем неспецифические изменения проницаемости мембраны, против повреждающего осмотического действия которых работает Na^+ , K^+ -АТФ-аза. Разумно предположить, что такие неспецифические воздействия увеличивают проницаемость мембраны не только для одновалентных, но и для двухва-

лентных катионов. Как при этом меняется стабилизация объема, показано на рис. 6 (кривая 3). Видно, что эффективность стабилизации резко возрастает. Вблизи физиологического значения проницаемости коэффициент стабилизации меняет свой знак, как бы переваливая через бесконечное значение. Это означает перерегуляцию: с ростом проницаемости объем клетки сначала может даже уменьшаться. Ряд экспериментальных данных показывает [95–97], что действительно, при небольших изменениях проницаемости объем эритроцитов уменьшается. При больших изменениях объем, конечно, начинает расти, но остается в пределах области допустимых значений при втрое больших изменениях проницаемости, чем в отсутствие калиевых каналов. Динамический диапазон стабилизации достигает 7–8, что хорошо согласуется с экспериментальными данными [79–82]. В этом случае в ответ на увеличение проницаемости, т.е. в ответ на те самые изменения, для противодействия которым и созданы все описанные выше системы регуляции, меняются все градиенты катионов [21]. Однако быстрее всех и сильнее всех меняется относительная концентрация Ca^{2+} (рис. 7). Именно Ca^{2+} оказывается главным индикатором, который наиболее чувствителен к повреждению. Наличие такого чувствительного индикатора позволяет резко увеличить качество стабилизации объема клетки.

В работе [18] модель Якобссона [15] была расширена за счет более детального описания ионного обмена. В уравнения для потоков ионов были включены выражения, описывающие K^+ , Cl^- и K^+ , Na^+ , 2Cl^- -котранспортеры. Из непроницающих ионов были отдельно выделены Mg^{2+} и гемоглобин. Было учтено неидеальное осмотическое по-

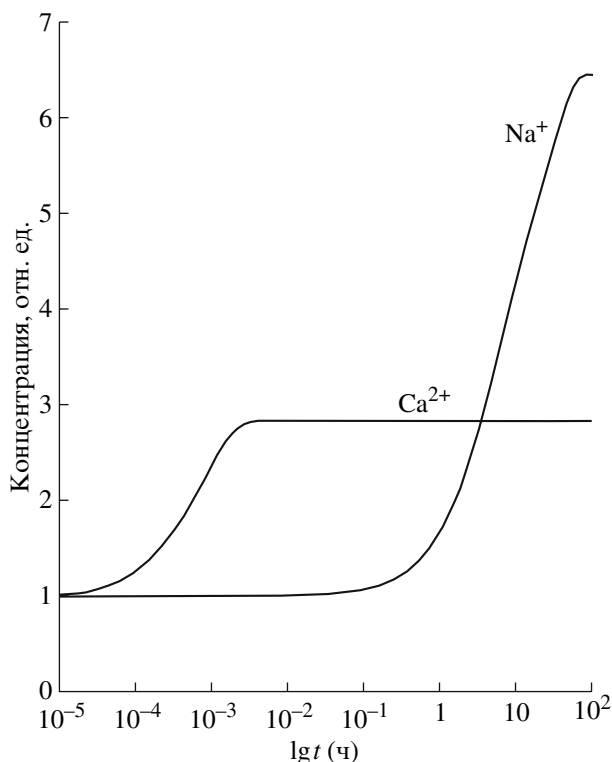


Рис. 7. Кинетика изменения концентраций Ca^{2+} и Na^{+} в эритроцитах после скачкообразного изменения проницаемости мембраны. Проницаемость для всех ионов изменена в начальный момент в 5 раз.

ведение гемоглобина и добавлено уравнение для обмена протонов между эритроцитом и внешней средой. В уравнении для $\text{Na}^{+}, \text{K}^{+}$ -АТФ-азы было учтено конкурентное ингибирование фермента внеклеточным Na^{+} и внутриклеточным K^{+} , однако не была включена крайне важная зависимость ее скорости от концентрации внутриклеточного Na^{+} . В работе использовалось правильное (3 : 2) стехиометрическое соотношение перекачиваемых ионов. Эта модель, как и предыдущие, не включала такой важный элемент регуляции объема, как Ca^{2+} -зависимые K^{+} -каналы (Гардос-эффект). Эта работа показала, что $\text{K}^{+}, \text{Cl}^{-}$ и $\text{K}^{+}, \text{Na}^{+}, 2\text{Cl}^{-}$ -котранспортеры не играют заметной роли в регуляции объема эритроцита, и учет неидеального осмотического поведения гемоглобина и зависимости его заряда от pH тоже мало что меняет в основных представлениях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования ионного гомеостаза в разных клетках, в первую очередь в эритроцитах, привели к пониманию того, что борьба с осмосом не сводится только к откачке части осмотически активных ионов из клетки с подходящей скоростью [20, 21]. Для клетки одним из основных показателей оказывается постоянство объема при значительных вариациях возмущающих воздействий. В

число этих возмущающих воздействий входят практически все параметры клетки, но наиболее сильным оказывается повреждение клеточной мембраны и связанное с ним нарушение ионного гомеостаза клетки. В данной работе мы сфокусировали внимание именно на этом возмущении. Однако анализ показывает, что созданные природой механизмы достаточно эффективно компенсируют и другие изменения. Так, например, активности ферментов в клетке могут варьировать как из-за действия повреждающих факторов, так и из-за генетических особенностей [71, 98]. Эритроциты могут отличаться концентрацией ионных насосов в мембране [99]. Основываясь на уравнениях (1)–(10), можно показать, что уменьшение стационарной активности $\text{Na}^{+}, \text{K}^{+}$ -насоса совершенно эквивалентно увеличению проницаемости мембраны клетки. Следовательно, все описанные механизмы будут так же компенсировать уменьшение активности главного насоса, как и увеличение проницаемости мембраны. Близкие соотношения наблюдаются и для Ca^{2+} -насоса.

Описанные в этой работе механизмы не исчерпывают всех приспособлений, которые использует эритроцит для улучшения стабилизации объема [100–104]. Выше предполагалось, что работа насосов обеспечивается постоянным уровнем АТФ в клетке, и этот уровень никак не реагирует на изменения нагрузки, которыми сопровождается

ся увеличение потоков. В работах [71, 100, 105] мы рассмотрели взаимовлияние энергетической системы и систем управления потоками. Этот анализ привел нас к представлениям о существовании сложной и красивой системы, управляющей объемом за счет метаболизма адениловых нуклеотидов, которая может эффективно вмешиваться и в регуляцию объема, доводя ее до совершенной, в большом диапазоне изменений параметров.

Основным показателем постоянства объема клетки является качество стабилизации объема. Для того чтобы обеспечить высокий коэффициент стабилизации объема в большом диапазоне изменений параметров, клетка использует несколько механизмов управления потоками ионов через мембрану клетки. Это приводит к такой сложной картине совместного действия разнообразных механизмов, что интерпретация результатов становится совершенно неэффективна без математических моделей процесса. Так возникает некое “разделение труда”. Математические модели не могут открыть или даже предсказать существование Na^+ , K^+ -насоса, поскольку природа могла бы выбрать другие молекулы в качестве веществ, используемых для борьбы с осмосом. Но, в свою очередь, очень трудно понять без моделей, почему этот насос устроен именно так, а не иначе. Почему он откачивает два встречных градиента, почему соотношение переносимых ионов два к трем, а не иное.

В других животных клетках механизмы стабилизации объема во многом похожи [106–114]. Все они опираются на активный транспорт ионов с помощью Na^+ , K^+ -насоса. Однако зачастую они имеют ряд своеобразных черт и используют другие дополнительные механизмы стабилизации объема.

Описанные в этой работе насосы и каналы не исчерпывают всего разнообразия этих устройств в разных клетках. Даже в эритроцитах мы знаем еще несколько типов разных каналов и обменников [101–104]. Конечно, далеко не всегда они являются частью системы регуляции объема клетки. Часто они участвуют в реализации других физиологических механизмов. И во многих случаях наиболее сложным и спорным является вопрос о том, какова физиологическая функция этих мембранных структур. Мы думаем, что зачастую получение ответов тормозится отсутствием соответствующих модельных работ, роль которых в этой области, как и в биологии в целом, долгое время недооценивалась.

Авторы глубоко благодарны В.М. Витвицкому, А.М. Жаботинскому, И.Л. Лисовской, А.В. Пичугину, А.Б. Кияткину за многолетние плодотворные дискуссии по проблемам, обсуждаемым в данной работе, а также Ю.А. Чизмадзеву,

критические замечания которого позволили сильно улучшить текст.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Физиология человека / Под ред. Шмидта Р. и Тевса Г. М.: Мир, 1996. Т. 1. 323 с.
2. Болдырев А.А., Твердислов В. А. Молекулярная организация и механизм функционирования Na -насоса / Под ред. Блюменфельда Л.А. М.: ВИНТИ, 1978.
3. Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов. М.: Изд-во МГУ, 1985. 208 с.
4. Болдырев А.А., Лопина О.Д., Рубцов А.М., Свиныхова И.А. Биохимия активного транспорта ионов и транспортные АТФазы. М.: Изд-во МГУ, 1983. 126 с.
5. Болдырев А.А., Котелевцев С.В., Ланио М., Альварес К., Перес П. Введение в мембранологию. М.: Изд-во МГУ, 1990. 208 с.
6. Hodgkin A.L., Haxley A.F. Action potentials recorded from inside a nerve fibre // *Nature*. 1939. V. 144. P. 710–711.
7. Hodgkin A.L., Haxley A.F. Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo* // *J. Physiol.* 1952. V. 116. № 4. P. 449–472.
8. Hodgkin A.L. Ionic movements and electrical activity in giant fibers // *Proc. Royal Soc. (London)*. 1958. V. B148. P. 1–37.
9. Ходжкин А. Нервный импульс. М.: Мир, 1965. 125 с.
10. Kahlenberg A., Urman B., Dolansky D. Preferential uptake of *D*-glucose by isolated human erythrocyte membranes // *Biochemistry*. 1971. V. 10. № 16. P. 3154–3162.
11. Jacobs R.L., Stead L.M., Brosnan M.E., Brosnan J.T. Hyperglucagonemia in rats results in decreased plasma homocysteine and increased flux through the transsulfuration pathway in liver // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 47. P. 43740–43747.
12. Kilberg S.M., Handlogten M.E., Christensen H.N. Characteristics of an amino acid transport system in rat liver for glutamine, asparagines, histidine, and closely related analogs // *J. Biol. Chem.* 1980. V. 255. № 9. P. 4011–4019.
13. Tosteson D.C. Halide transport in red blood cells // *Acta Physiol. Scand.* 1959. V. 46. P. 19–41.
14. Tosteson D.C., Hoffman J.F. Regulation of cell volume by active cation transport in high and low potassium sheep red cells // *J. Gen. Physiol.* 1960. V. 44. P. 169–194.
15. Jakobsson E. Interactions of cell volume, membrane potential, and membrane transport parameters // *Amer. J. Physiol.* 1980. V. 238. № 5. P. C196–C206.
16. Атауллаханов Ф.И. Регуляция метаболизма в эритроцитах. Дис. ... д-ра биол. наук. М., 1983. 296 с.
17. Werner A., Heinrich R. A kinetic model for the interaction of energy metabolism and osmotic states of human erythrocytes. Analysis of the stationary “in vivo” state and of time dependent variations under blood preservation conditions // *Biomed. Biochim. Acta*. 1985. V. 44. № 2. P. 185–212.

18. *Lew V.L., Bookchin R.M.* Volume, pH, and ion-content regulation in human red cells: analysis of transient behavior with an integrated model // *J. Membr. Biol.* 1986. V. 92. № 1. P. 57–74.
19. *Мороз И.А., Атауллаханов Ф.И., Пичугин А.В., Кияткин А.Б., Витвицкий В.М.* Математическая модель регуляции объема эритроцитов // *Биол. мембраны.* 1989. Т. 6. С. 409–419.
20. *Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Кияткин А.Б., Пичугин А.В.* Регуляция объема эритроцитов человека. Роль калиевых каналов, активируемых кальцием // *Биофизика.* 1993. Т. 38. С. 809–821.
21. *Martinov M.V., Vitvitsky V.M., Ataullakhanov F.I.* Volume stabilization in human erythrocytes: combined effects of Ca²⁺-dependent potassium channels and adenylate metabolism // *Biophys. Chem.* 1999. V. 80. № 3. P. 199–215.
22. *Hodgkin A.L., Haxley A.F.* A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve // *J. Physiol.* 1952. V. 117. № 4. P. 500–544.
23. *Skou J.C.* The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves // *Biochim. et biophys. acta.* 1957. V. 23. № 2. P. 394–401.
24. *Котык А., Яначек К.* Мембранный транспорт. М.: Мир, 1980. 338 с.
25. *Post R.L., Merritte C.R., Kinsolving C.R., Albright C.D.* Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte // *J. Biol. Chem.* 1960. V. 235. P. 1796–1802.
26. *Marchesi V.T., Furthmayr H., Tomita M.* The red cell membrane // *Annu. Rev. Biochem.* 1976. V. 45. P. 667–698.
27. *Tosteson D.C.* The cellular functions of active transport of K and Na // *Physiol. Pharmacol. Physicians.* 1965. V. 3. № 10. P. 1–6.
28. *Hoffman P.G., Tosteson D.C.* Active sodium and potassium transport in high potassium and low potassium sheep red cells // *J. Gen. Physiol.* 1971. V. 58. № 4. P. 438–466.
29. *Tosteson D.C.* Active transport, genetics, and cellular evolution // *Fed. Proc.* 1963. V. 22. P. 19–26.
30. *Guharay F., Sachs F.* Stretch-activated single ion channel currents in tissue-cultured embryonic chick skeletal muscle // *J. Physiol.* 1984. V. 352. P. 685–701.
31. *Геннис Р.* Биомембраны. Молекулярная структура и функции. Пер. с англ. М.: Мир, 1997. 624 с.
32. *Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И.* Основы биохимии. Пер. с англ. М.: Мир, 1981. 1878 с.
33. *Beutler E.* Red Cell Metabolism. N.Y.: Grune & Stratton, 1975.
34. *Jacobash G.S., Minakami S., Rapoport S.M.* // Cellular and molecular biology of erythrocytes / Eds Yoshikawa J. & Rapoport S.M. Tokyo: University of Tokyo Press, 1974. P. 55–142.
35. *Evans E.A., Skalak R.* Mechanics and the thermodynamics of biomembranes. Boca Raton. FL.: CRC Press, 1980. 304 p.
36. *Маркин В.С.* Организация мембран в плоскости слоя и форма клетки. Биологические следствия теории // *Биофизика.* 1981. Т. 26. № 1. С. 158–167.
37. *Rapoport S.M.* The regulation of glycolysis in mammalian erythrocytes // *Essays Biochem.* 1968. V. 4. P. 69–103.
38. *Rapoport S.M., Muller M.* Cellular and Molecular Biology of erythrocytes / Eds Yoshikawa J. & Rapoport S.M. Tokyo: University of Tokyo Press, 1974. P. 167–179.
39. *Grimes A.G.* Human Red Cell Metabolism. Oxford: Blackwell, 1980.
40. *Lionetti F.J.* Cellular and molecular biology of erythrocytes / Eds Yoshikawa J. & Rapoport S.M. Tokyo: University of Tokyo Press, 1974. P. 143–166.
41. *Kilmartin J.V., Rossi-Barnardi L.* Interaction of hemoglobin with hydrogen ions, carbon dioxide, and organic phosphates // *Physiol. Rev.* 1973. V. 53. P. 836–890.
42. *Mohandas N., Chasis J.A., Shohet S.B.* The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties, and shape // *Semin. Hematol.* 1983. V. 20. P. 225–242.
43. *Mueller T.J., Jackson C.W., Dokter M.E., Morrison M.* Membrane skeletal alterations during *in vivo* mouse red cell aging. Increase in the band 4.1a:4.1b ratio // *J. Clin. Invest.* 1987. V. 79. P. 492–499.
44. *Markin V.S.* Lateral organization of membranes and cell shapes // *Biophys. J.* 1981. V. 36. № 1. P. 1–19.
45. *Glaser R., Leitmannova A.* Mathematical modelling of shape-transformations of human erythrocytes // *Acta. Biol. Med. Ger.* 1977. V. 36. № 5–6. P. 859–869.
46. *Leitmannova A., Glaser R.* Mathematical modelling of human echinocytes and the membrane bending of discocytes, stomatocytes and echinocytes // *Studia biophysica.* 1977. V. 64. № 2. P. 123–141
47. *Fung Y.C., Tsang W.C., Patitucci P.* High-resolution data on the geometry of red blood cells. // *Biorheology.* 1981. V. 18. № 3–6. P. 369–385.
48. *Canham P.B., Burton A.C.* Distribution of size and shape in populations of normal human red cells // *Circ. Res.* 1968. V. 22. № 3. P. 405–422.
49. *Waugh R.E., Sarelus I.H.* Effects of lost surface area on red blood cells and red blood cell survival in mice // *Am. J. Physiol.* 1996. V. 271. № 6. Pt 1. P. C1847–1852.
50. *Clark M.R.* Computation of the average shear-induced deformation of red blood cells as a function of osmolality // *Blood Cells.* 1989. V. 15. № 2. P. 427–439.
51. *Linderkamp O., Meiselman H.J.* Geometric, osmotic, and membrane mechanical properties of density-separated human red cells // *Blood.* 1982. V. 59. № 6. P. 1121–1127.
52. *Nash G.B., O'Brien E., Gordon-Smith E.C., Dormandy J.A.* Abnormalities in the mechanical properties of red blood cells caused by *Plasmodium falciparum* // *Blood.* 1989. V. 74. № 2. P. 855–861.
53. *Marvel J.S., Sutura S.P., Krogstad D.J., Zarkowsky H.S., Williamson J.R.* Accurate determination of mean cell volume by isotope dilution in erythrocyte populations with variable deformability // *Blood Cells.* 1991. V. 17. № 3. P. 497–512.

54. *Paulitschke M., Nash G.B.* Micropipette methods for analyzing blood cell rheology and their application to clinical research // *Clin. Hemorheol.* 1993. V. 13. P. 407–434.
55. *Weed R.J., Reed C.F.* Metabolic dependence of red cell deformability // *Amer. J. Med.* 1966. V. 41. P. 681–698.
56. *Whittam R., Ager M.E.* Vectorial aspects of adenosine-triphosphatase activity in erythrocyte membranes // *Biochem. J.* 1964. V. 93. P. 337–348.
57. *Gamble J.L.* Chemical anatomy, physiology and extracellular fluid. 6th ed. Cambridge, Mass.: Harvard University Press, 1954.
58. *Klausner M.A., Hirsch L.J., Leblond P.F., Chamberlain J.K., Klempner M.R., Segel G.B.* Contrasting splenic mechanisms in the blood clearance of red blood cells and colloidal particles // *Blood.* 1975. V. 46. № 6. P. 965–976.
59. *Chen L.T., Weiss L.* The role of the sinus wall in the passage of erythrocytes through the spleen // *Blood.* 1973. V. 41. № 4. P. 529–537.
60. *Маркин В.С., Чизмаджев Ю.А.* Индуцированный ионный транспорт. М.: Наука, 1974. С. 38–45.
61. *Веренинов А.А., Марахова И.И.* Транспорт ионов у клеток в культуре. Л.: Наука, 1986. 291 с.
62. *Knauf P.A., Fuhrmann G.F., Rothstein S., Rothstein A.* The relationship between anion exchange and net anion flow across the human red blood cell membrane // *J. Gen. Physiol.* 1977. V. 69. № 3. P. 363–386.
63. *Raftos J.E., Lew V.L.* Effect of intracellular magnesium on calcium extrusion by the plasma membrane calcium pump of intact human red cells // *J. Physiol.* 1995. V. 489. Pt. 1. P. 63–72.
64. *Rothstein A., Cabantchik Z.I., Knauf P.* Mechanism of anion transport in red blood cells: role of membrane proteins // *Fed. Proc.* 1976. V. 35. № 1. P. 3–10.
65. *Cabantchik Z.I., Knauf P.A., Rothstein A.* The anion transport system of the red blood cell. The role of membrane protein evaluated by the use of 'probes' // *Biochim. et biophys. acta.* 1978. V. 515. № 3. P. 239–302.
66. *Sen A.K., Post R.L.* Stoichiometry and localization of adenosine triphosphate-dependent sodium and potassium transport in the erythrocyte // *J. Biol. Chem.* 1964. V. 239. P. 345–352.
67. *Bonting S.L.* // *Membranes and ion transport* / Ed. Bittar E.E. London: Wiley Interscience, 1970. V. 1. P. 257–363.
68. *Robinson J.D.* Free Mg²⁺ and proposed isomerizations of the (Na plus K⁺)-dependent ATPase // *FEBS Lett.* 1974. V. 47. № 2. P. 352–355.
69. *Kennedy B.G., Lunn G., Hoffman J.F.* Effects of altering the ATP/ADP ratio on pump-mediated Na/K and Na/Na exchanges in resealed human red blood cell ghosts // *J. Gen. Physiol.* 1986. V. 87. № 1. P. 47–72.
70. *Атауллаханов Ф.И., Буравцев В.Н., Витвицкий В.М., Дибров Б.Ф., Жаботинский А.М., Пичугин А.В., Холоденко Б.Н., Эрлих Л.И.* Связь между скоростью АТФ-потребляющих процессов и концентрацией АТФ в интактных эритроцитах // *Биохимия.* 1980. Т. 45. С. 1075–1079.
71. *Martinov M.V., Plotnikov A.G., Vitvitsky V.M., Ataullakhonov F.I.* Deficiencies of glycolytic enzymes as a possible cause of hemolytic anemia // *Biochim. et biophys. acta.* 2000. V. 1474. № 1. P. 75–87.
72. *Segel G.B., Feig S.A., Glader B.E., Muller A., Dutcher P., Nathan D.G.* Energy metabolism in human erythrocytes: the role of phosphoglycerate kinase in cation transport // *Blood.* 1975. V. 46. № 2. P. 271–278.
73. *Ross P.D., Minton A.P.* Hard quasiperfect model for the viscosity of hemoglobin solutions // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1977. V. 76. № 4. P. 971–976.
74. *Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрин Н.Х.* Реология крови. М.: Медицина, 1982.
75. *Baskurt O.K., Meiselman H.J.* Blood rheology and hemodynamics // *Semin. Thromb. Hemost.* 2003. V. 29. № 5. P. 435–450.
76. *Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Лисовская И.Л., Тужилова Е.Г.* Анализ геометрических параметров и механических свойств эритроцитов методом фильтрации через мембранные ядерные фильтры. I. Математическая модель // *Биофизика.* 1994. Т. 39. С. 672–680.
77. *Лисовская И.Л., Атауллаханов Ф.И., Тужилова Е.Г., Витвицкий В.М.* Анализ геометрических параметров и механических свойств эритроцитов методом фильтрации через мембранные ядерные фильтры. II. Экспериментальная проверка математической модели // *Биофизика.* 1994. Т. 39. С. 864–871.
78. *Орлов С.Н., Покудин Н.И., Эль-Раби Л.С., Брусованик В.И., Кубатиев А.А.* Транспорт ионов в эритроциты человека при различных формах гемолитической анемии: корреляционный анализ // *Биохимия.* 1993. Т. 58. № 6. С. 866–873.
79. *Hebbel R.P., Mohandas N.* Reversible deformation-dependent erythrocyte cation leak. Extreme sensitivity conferred by minimal peroxidation // *Biophys. J.* 1991. V. 60. № 3. P. 712–715.
80. *Deuticke B., Heller K.B., Haest C.W.* Leak formation in human erythrocytes by the radical-forming oxidant t-butylhydroperoxide // *Biochim. et biophys. acta.* 1986. V. 854. № 2. P. 169–183.
81. *Kramer H.J., Gospodinov D., Kruck F.* Functional and metabolic studies on red blood cell sodium transport in chronic uremia // *Nephron.* 1976. V. 16. № 5. P. 344–358.
82. *Illner H., Shires G.T.* Changes in sodium, potassium, and adenosine triphosphate contents of red blood cells in sepsis and septic shock // *Circ. Shock.* 1982. V. 9. № 3. P. 259–267.
83. *Brumen M., Heinrich R.* A metabolic osmotic model of human erythrocytes // *Biosystems.* 1984. V. 17. № 2. P. 155–169.
84. *Beauge L., Lew V.L.* Membrane transport in red cells. / Eds Ellory J.C., Lew V.L. Academic Press, 1977. P. 39.
85. *Castranova V., Weise M.J., Hoffman J.F.* Anion transport in dog, cat, and human red cells. Effects of varying cell volume and Donnan ratio // *J. Gen. Physiol.* 1979. V. 74. № 3. P. 319–334.

86. Gardos G. The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes // *Biochim. et biophys. acta*. 1958. V. 30. № 3. P. 653–654.
87. Gardos G. The role of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes // *Acta Physiol. Hung.* 1959. V. 15. № 2. P. 121–125.
88. Hille B., Schwarz W. Potassium channels as multi-ion single-file pores // *J. Gen. Physiol.* 1978. V. 72. № 4. P. 409–442.
89. Maher A.D., Kuchel P.W. The Gardos channel: a review of the Ca^{2+} -activated K^+ channel in human erythrocytes // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2003. V. 35. № 8. P. 1182–1197. Erratum in: *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2003. V. 35. № 12. P. 1682.
90. Leinders T., van Kleef R.G.D.M., Vijverberg H.P.M. Single Ca^{2+} -activated K^+ channels in human erythrocytes: Ca^{2+} -dependence of opening frequency but not of open lifetimes // *Biochim. et biophys. acta*. 1992. V. 1112. № 1. P. 67–74.
91. Leinders T., van Kleef R.G., Vijverberg H.P. Distinct metal ion binding sites on Ca^{2+} -activated K^+ channels in inside-out patches of human erythrocytes // *Biochim. et biophys. acta*. 1992. V. 1112. № 1. P. 75–82.
92. Simons T.J. Calcium-dependent potassium exchange in human red cell ghosts // *J. Physiol.* 1976. V. 256. № 1. P. 227–244.
93. Lew V.L., Ferreira H.G. Variable Ca sensitivity of a K-selective channel in intact red-cell membranes // *Nature*. 1976. V. 263. № 5575. P. 336–338.
94. Wiley J.S., McCulloch K.E. Calcium ions, drug action and the red cell membrane // *Pharmacol. Ther.* 1982. V. 18. № 2. P. 271–292.
95. Li Q., Jungmann V., Kiyatkin A., Low P.S. Prostaglandin E2 stimulates a Ca^{2+} -dependent K^+ channel in human erythrocytes and alters cell volume and filterability // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 31. P. 18651–18656.
96. Rivera A., Rotter M.A., Brugnara C. Modulation of Gardos channel activity by cytokines in sickle erythrocytes // *Am. J. Physiol.* 1999. V. 277. № 4. Pt. 1. P. 746–754.
97. Rivera A., Jarolim P., Brugnara C. Modulation of Gardos channel activity by cytokines in sickle erythrocytes // *Blood*. 2002. V. 99. P. 357–603.
98. Бойтлер Э. Нарушения метаболизма эритроцитов и гемолитическая анемия. Пер. с англ. М.: Медицина, 1981. 256 с.
99. Halperin J.A., Brugnara C., Kopin A.S., Ingwall J., Tosteson D.C. Properties of the Na^+ - K^+ pump in human red cells with increased number of pump sites // *J. Clin. Invest.* 1987. V. 80. № 1. P. 128–137.
100. Ataulakhanov F.I., Komarova S.V., Martinov M.V., Vitvitsky V.M. A possible role of adenylate metabolism in human erythrocytes. 2. Adenylate metabolism is able to improve the erythrocyte volume stabilization // *J. Theor. Biol.* 1996. V. 183. P. 75–86.
101. Haas M., Schmidt W.F. 3rd, McManus T.J. Catecholamine-stimulated ion transport in duck red cells. Gradient effects in electrically neutral $[\text{Na} + \text{K} + 2\text{Cl}]$ co-transport // *J. Gen. Physiol.* 1982. V. 80. № 1. P. 125–147.
102. Duhm J., Gobel B.O. Role of the furosemide-sensitive Na^+/K^+ transport system in determining the steady-state Na^+ and K^+ content and volume of human erythrocytes *in vitro* and *in vivo* // *J. Membr. Biol.* 1984. V. 77. № 3. P. 243–254.
103. Lauf P.K., Bauer J., Adragna N.C., Fujise H., Zade-Oppen A.M., Ryu K.H., Delpire E. Erythrocyte K-Cl cotransport: properties and regulation // *Am. J. Physiol.* 1992. V. 263. № 5. Pt. 1. P. C917–932.
104. Duhm J., Becker B.F. Studies on lithium transport across the red cell membrane. V. On the nature of the Na^+ -dependent Li^+ countertransport system of mammalian erythrocytes // *J. Membr. Biol.* 1979. V. 51. № 3–4. P. 263–286.
105. Komarova S.V., Mosharov E.V., Vitvitsky V.M., Ataulakhanov F.I. Adenine nucleotide synthesis in human erythrocytes depends on the mode of supplementation of cell suspension with adenosine // *Blood Cells Mol. Dis.* 1999. V. 25. № 3–4. P. 170–179.
106. Sardini A., Amey J.S., Weylandt K.H., Nobles M., Valverde M.A., Higgins C.F. Cell volume regulation and swelling-activated chloride channels // *Biochim. Biophys. Acta*. 2003. V. 1618. № 2. P. 153–162.
107. Lang F., Lang K.S., Wieder T., Myssina S., Birka C., Lang P.A., Kaiser S., Kempe D., Duranton C., Huber S.M. Cation channels, cell volume and the death of an erythrocyte // *Pflügers Arch.* 2003. V. 447. № 2. P. 121–125.
108. Lang F., Busch G.L., Ritter M., Volkl H., Waldegger S., Gulbins E., Haussinger D. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms // *Physiol. Rev.* 1998. V. 78. № 1. P. 247–306.
109. Lew V.L., Hockaday A.R. The effects of transport perturbations on the homeostasis of erythrocytes // *Novartis Found Symp.* 1999. V. 226. P. 37–50. Discussion P. 50–54.
110. Fraser J.A., Huang C.L. A quantitative analysis of cell volume and resting potential determination and regulation in excitable cells // *J. Physiol.* 2004. V. 559. № 2. P. 459–478.
111. Pannicke T., Iandiev I., Uckermann O., Biedermann B., Kutzera F., Wiedemann P., Wolburg H., Reichenbach A., Bringmann A. A potassium channel-linked mechanism of glial cell swelling in the postschismic retina // *Mol. Cell. Neurosci.* 2004. V. 26. № 4. P. 493–502.
112. Weinstein A.M. Modeling epithelial cell homeostasis: assessing recovery and control mechanisms // *Bull. Math. Biol.* 2004. V. 66. № 5. P. 1201–1240.
113. Ehrenfeld J., Raschi C., Brochiero E. Basolateral potassium membrane permeability of A6 cells and cell volume regulation // *J. Membr. Biol.* 1994. V. 138. № 3. P. 181–195.

How Erythrocyte Volume Is Regulated, or What Mathematical Models Can and Cannot Do for Biology

**F. I. Ataulakhanov¹⁻³, N. O. Korunova², I. S. Spiridonov², I. O. Pivovarov³,
N. V. Kalyagina⁴, M. V. Martinov²**

¹*Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia; e-mail: fazly@hc.comcor.ru*

²*National Research Center for Hematology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 125167 Russia*

³*Physics Department, Moscow Lomonosov State University, Moscow, 119991 Russia*

⁴*Bauman State Technical University, Moscow, 105005 Russia*

Modern concepts on red blood cell (RBC) volume regulation are considered. It is shown that the system of ion pumps and channels ensures a physiological value of volume with a precision of about 10% even at 5- to 7-fold variations of cell membrane permeability for ions. Special attention is paid to mathematical models for evaluation of the role of different molecular mechanisms in the RBC volume control. It is shown that many questions, for example, 'why the Na⁺,K⁺-ATPase pumps the ions in opposite directions' or 'what is the physiological role of Ca²⁺-activated K⁺-channels', cannot be answered without adequate mathematical models of such complex regulation systems as cell volume control.