

УДК 577.352.4

## МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ОБЪЕМА В ГИПОТОНИЧЕСКОЙ СРЕДЕ

© 2011 г. Е. И. Соленов, А. В. Иляскин, Г. С. Батурина,  
Д. А. Медведев, А. П. Ершов, Д. И. Карпов

Представлено академиком Н.А. Колчановым 07.07.2010 г.

Поступило 20.07.2010 г.

Клетки эпителия контактируют со средой, осмотическое давление которой может меняться в широких пределах. Для поддержания осмотического равновесия, в особенности в гипотонической среде, необходимы эффективные механизмы регуляции объема клетки. В настоящей работе проведено экспериментальное исследование изменения объема главных клеток собирательных трубок почки в гипоосмотической среде и предложена математическая модель, описывающая регуляторное снижение клеточного объема (RVD).

Экспериментальное моделирование гипотонического шока выполняли на главных клетках микродиссектированных собирательных трубок почки крысы, как описано ранее [13]. Использовали фрагменты собирательных трубок наружного мозгового вещества почки (OMCD) 60-дневных крыс линии Вистар обоих полов. В эксперименте осмолярность внешней среды снижали вдвое приблизительно за 0.1 с, в гипотонической среде клетка находилась в течение 12 с, затем восстанавливали нормальную осмолярность. Изменения объема клетки измеряли флуоресцентным методом и выражали в относительных величинах [12]. Все экспериментальные записи получены в 6 независимых экспериментах ( $n = 6$ ), результаты выражены как  $M \pm SE$ . Из рис. 1 видно, что гипоосмотический шок сопровождался резким увеличением объема клеток, за которым следовало регуляторное снижение объема. Снижение объема в гипотонической среде обусловлено потерей клеточной части осмолитов: после шока равновесный объем в изотонической среде составлял около 60% от исходного.

Математическая модель клетки представляет собой систему обыкновенных дифференциальных уравнений, описывающих изменения объема клетки  $V$  и внутриклеточных количеств ионов  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  и органических анионов  $X$  ( $n_{Na}$ ,  $n_K$ ,  $n_{Cl}$ ,  $n_X$ ) за счет трансмембранных потоков воды и ионов через водные и ионные каналы,  $Na/K$ -насос, а также котранспортеры  $KCC$  и  $NKCC$  в соответствии с данными [8, 9, 11, 15]. Площадь поверхности мембраны  $A$  полагалась постоянной. Трансмембранный электрический потенциал  $E_m$  вычисляли по текущему полному внутриклеточному заряду с использованием значения удельной электрической емкости мембраны  $C_m$  [1]. Аппроксимация профиля клеточного объема с помощью математической модели позволила получить количественные оценки и временные характеристики потоков основных осмолитов и проницаемостей плазматической мембраны в процессе регуляции

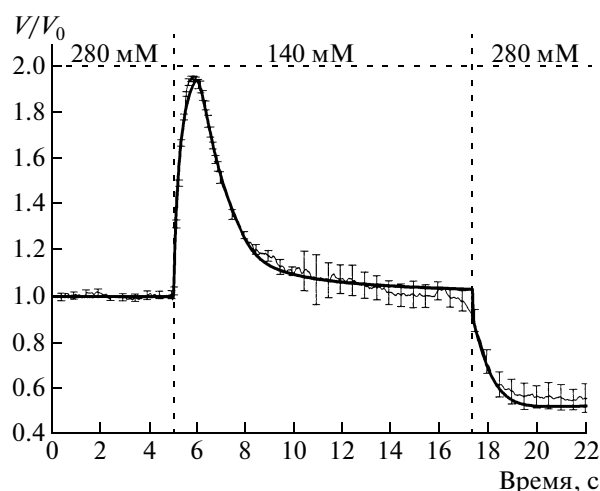


Рис. 1. Моделирование реакции RVD. Зависимость относительного объема клетки от времени (толстая линия — модель, тонкая — эксперимент с указанием стандартной ошибки ( $SE$ )). Верхняя шкала отражает изменение суммарной внеклеточной концентрации ионов.

Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской Академии наук,  
Новосибирск

Институт гидродинамики им. М.А. Лаврентьева  
Сибирского отделения Российской Академии наук,  
Новосибирск

Новосибирский государственный университет

клеточного объема в гипотонической среде. Основные уравнения модели имеют вид

$$\begin{aligned}\frac{dn_{\text{Na}}}{dt} &= A[-3J_P + J_{\text{Na}} + J_{\text{НКСС}}], \\ \frac{dn_{\text{K}}}{dt} &= A[2J_P + J_{\text{K}} + J_{\text{КСС}} + J_{\text{НКСС}}], \\ \frac{dn_{\text{Cl}}}{dt} &= A[J_{\text{Cl}} + 2J_{\text{НКСС}} + J_{\text{КСС}}], \\ \frac{dn_{\text{X}}}{dt} &= AJ_{\text{X}}, \\ \frac{dV}{dt} &= AV_w P_w \left[ \frac{n_{\text{Na}} + n_{\text{K}} + n_{\text{Cl}} + n_{\text{X}}}{V} - \Pi_e \right], \\ E_m &= F \frac{n_{\text{Na}} + n_{\text{K}} - n_{\text{Cl}} + zXn_{\text{X}}}{AC_m}.\end{aligned}$$

Потоки ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$  через ионные каналы моделировали, используя диффузионные уравнения Фика и Планка с учетом преобразования Гольдмана–Ходжкина–Каца [2,5]:

$$\begin{aligned}J_{\text{Na}} &= P_{\text{Na}} \varepsilon(u) \left[ [\text{Na}^+]_{\text{out}} \exp\left(-\frac{u}{2}\right) - \frac{n_{\text{Na}}}{V} \exp\left(\frac{u}{2}\right) \right], \\ J_{\text{K}} &= P_{\text{K}} \varepsilon(u) \left[ [\text{K}^+]_{\text{out}} \exp\left(-\frac{u}{2}\right) - \frac{n_{\text{K}}}{V} \exp\left(\frac{u}{2}\right) \right], \\ J_{\text{Cl}} &= P_{\text{Cl}} \varepsilon(u) \left[ [\text{Cl}^-]_{\text{out}} \exp\left(\frac{u}{2}\right) - \frac{n_{\text{Cl}}}{V} \exp\left(-\frac{u}{2}\right) \right], \\ J_{\text{X}} &= -P_{\text{X}} \varepsilon(u) \left[ \frac{n_{\text{X}}}{V} \exp\left(\frac{zu}{2}\right) \right],\end{aligned}$$

где  $u = FE_m/RT$ , функция  $\varepsilon(u) = \frac{u}{\left[ \exp\left(\frac{u}{2}\right) - \exp\left(-\frac{u}{2}\right) \right]}$ .

Выражение для потока  $J_{\text{X}}$  органических анионов из клетки учитывает, что концентрация  $[\text{X}]_{\text{out}} = 0$ .

Поток  $J_P$ , обусловленный работой  $\text{Na}/\text{K}$ -насоса, определяли на основе стационарного состояния работы фермента [3, 4]. Потоки через  $\text{КСС}$ - и  $\text{НКСС}$ -котранспортеры определяются трансмембранными перепадами концентраций ионов и пропорциональны параметрам проницаемости  $Q_{\text{НКСС}}$  и  $Q_{\text{КСС}}$  [6]

$$J_{\text{НКСС}} = Q_{\text{НКСС}}([\text{Na}^+]_{\text{out}}[\text{K}^+]_{\text{out}}[\text{Cl}^-]_{\text{out}}^2 - [\text{Na}^+]_{\text{in}}[\text{K}^+]_{\text{in}}[\text{Cl}^-]_{\text{in}}^2);$$

$$J_{\text{КСС}} = Q_{\text{КСС}}([\text{K}^+]_{\text{out}}[\text{Cl}^-]_{\text{out}} - [\text{K}^+]_{\text{in}}[\text{Cl}^-]_{\text{in}}).$$

Параметры проницаемости  $P_{\text{Na}}$ ,  $P_{\text{K}}$ ,  $P_{\text{Cl}}$ , ко-транспорта  $Q_{\text{КСС}}$ ,  $Q_{\text{НКСС}}$  и плотности  $\text{Na}/\text{K}$ -насоса, соответствующие стационарному состоянию, подбирали таким образом, чтобы значения внутриклеточных концентраций  $[\text{Na}^+]_{\text{in}}$ ,  $[\text{K}^+]_{\text{in}}$  и  $[\text{Cl}^-]_{\text{in}}$  и электрического потенциала покоя мембраны соответствовали известным экспериментальным данным для таких клеток [10, 14]. Внеклеточную осмолярность  $\Pi_e$  определяли методикой проведе-

ния эксперимента, внутриклеточную – суммарной концентрацией ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  и органических ионов  $\text{X}$ . Количество органических анионов  $\text{X}$  выбирали таким образом, чтобы вначале общая концентрация внутриклеточных осмолитов равнялась внеклеточной (280 мМ). Средний заряд органических ионов  $z$  подбирали таким образом, чтобы обеспечить приблизительную электронейтральность внутриклеточной среды.

Уравнения интегрировали методом Рунге–Кутты 4-го порядка. Шаг интегрирования составлял  $10^{-5}$  с, что много меньше интервала съема экспериментальных измерений и характерных времен моделируемых процессов.

Механизм RVD в модели описывается возрастанием проницаемостей для ионов  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  и органических анионов  $\text{X}$ , в результате чего резко возрастают потоки соответствующих ионов из клетки. Подбор искомым зависимостей проводили вручную с минимизацией суммы квадратов разности значений относительного объема клетки в каждый момент времени в качестве критерия сходства между экспериментом и расчетом.

Из экспериментальных данных следует, что в начале процесса набухания (в течение 0.9 с) клетка увеличивает объем, как идеальный осмометр, что указывает на отсутствие значительного выхода осмолитов из клетки в этот период. В модели это отражено задержкой включения процессов RVD на 0.9 с после смены осмолярности окружающего раствора. Далее в качестве первого приближения принималось, что проницаемости управляются текущим объемом клетки. Расчеты позволили подобрать степень возрастания проницаемостей и вид их зависимостей от объема.

При  $\frac{V}{V_0} > 1.3$  проницаемости  $P_{\text{K}}$ ,  $P_{\text{Cl}}$ ,  $Q_{\text{КСС}}$  умножа-

лись на коэффициент  $G_{\text{max}} = 1100$ ; для органических ионов ( $P_{\text{X}}$ ) возрастание проницаемости было

вдвое меньшим. В интервале  $1 < \frac{V}{V_0} < 1.3$  происхо-

дило постепенное увеличение проницаемостей (коэффициент возрастания  $G$  зависел от объема). Приемлемое согласие с экспериментом достигается для  $G \propto \left(\frac{V}{V_0} - 1\right)^2$ , причем  $G = G_{\text{max}}$  при  $\frac{V}{V_0} = 1.3$

(непрерывная функция). На участке роста объема это сглаживание не сказывается, так как значение  $1.3V_0$  достигается раньше времени задержки реакции RVD 0.9 с. Расчеты показали, что описанная модель удовлетворительно описывает по-

ведение клетки (рис. 1).

Созданная модель носит предварительный характер, поскольку учитывает главным образом механическую активацию процесса RVD. Но уже на этом уровне моделирования можно сделать

предположения о физиологических механизмах адаптации клетки. Из расчетов, в частности, следует, что для осуществления RVD требуется возрастание проницаемостей для ионов на три порядка, при этом выявляется особая значимость потоков через KCl-котранспортер ( $J_{KCC}$ ) для снижения внутриклеточной концентрации ионов  $K^+$  и потоков органических анионов X ( $J_X$ ), определяющих равновесный объем клетки в гипосмотической среде. Кроме того, модель позволяет осуществить предварительную количественную оценку величины водной проницаемости мембраны клетки во время набухания при гипотоническом шоке. Подобный экспериментально-теоретический подход может быть полезен при исследовании влияния различных агентов на транспортные механизмы клетки.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 08-04-00541 и 09-04-00197) и интеграционного проекта СО РАН № 58.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Fraser J.* // J. Physiol. 2004. V. 559. № 2. P. 459–478.
2. *Goldman D.E.* // J. Gen. Physiol. 1943. V. 27. P. 37–60.
3. *Hernandez J., Chifflet S.* // J. Membr. Biol. 2000. V. 176. P. 41–52.
4. *Hernandez J., Fischbarg J., Liebovitch L.S.* // J. Theor. Biol. 1989. V. 137. P. 113–125.
5. *Hodgkin A., Katz B.* // J. Physiol. 1949. V. 108. P. 37–77.
6. *Lang F., Busch G.L., Ritter M., et al.* // Physiol. Rev. 1998. V. 78. P. 247–306.
7. *Lauf P., Adragna N.* // Cell. Physiol. Biochem. 2000. V. 10. P. 341–354.
8. *Legato J., Knepper M.A.* // Physiol. Genom. 2003. V. 13. P. 179–181.
9. *Muto S.* // Physiol. Rev. 2001. V. 81. № 1. P. 85–116.
10. *Pappas C., Koeppe B.* // Amer. J. Physiol. 1992. V. 263. P. F1004–F1010.
11. *Reif M., Troutman S., Schafer J.* // J. Clin. Invest. 1986. V. 77. P. 1291–1298.
12. *Solenov E.I., Watanabe H., Manley G.T., Verkman A.S.* // Amer. J. Physiol. Cell. Physiol. 2004. V. 286. P. C426–C432.
13. *Solenov E.I., Nesterov V.V., Baturina G.S., et al.* // Europ. Biophys. J. 2003. V. 32. P. 614–619.
14. *Stanton B.* // Amer. J. Physiol. 1989. V. 256. P. F862–F868.
15. *Wall S., Fischer M., Mehta P., et al.* // Amer. J. Physiol. Renal. Physiol. 2001. V. 280. P. 913–921.