

## КЛЕТКА В СОСТОЯНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ: ЭЛЕКТРОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ, РОЛЬ АТФ, ЛЕКАРСТВ, ГОРМОНОВ И ДРУГИХ КАРДИНАЛЬНЫХ АДСОРБАТОВ

Мембранная теория когда-то приобрела мировое признание, сумев объяснить четыре фундаментальных физиологических явления: асимметричное распределение веществ между клеткой и средой, полупроницаемость клетки, набухание/сжатие клетки и потенциал покоя. Это удалось сделать, приписав клеточной мембране ряд странных свойств, одним из которых была непроницаемость мембраны для  $\text{Na}^+$  и сахарозы. Но когда было обнаружено, что она на самом деле проницаема для них, позиции теории пошатнулись. Результатом кризиса явилась теория натриевого насоса. Но прошло еще некоторое время, и эта модифицированная теория также столкнулась с непреодолимыми противоречиями. В настоящее время можно, по моему мнению, считать, что эпоха парадигмы, согласно которой клетки — это мембранные пузырьки, заполненные разбавленным водным раствором электролитов, закончилась.

При знакомстве с теорией фиксированных зарядов Линга (ТФЗЛ) и теорией МОПВ в центре нашего внимания было два физиологических феномена: избирательная адсорбция  $\text{K}^+$  с вытеснением  $\text{Na}^+$  из центров связывания, а также многослойная адсорбция воды, молекулы которой в этих слоях ориентированы в пространстве в определенном порядке и поляризованы (то есть имеют увеличенный дипольный момент). И то, и другое — черты *статического* состояния системы, характерные для клетки в состоянии покоя. Теперь пришло время рассмотреть механизмы *активности* клетки. В начале этой главы мы рассмотрим четыре основных, фундаментальных, свойства клетки с позиций теории АИ, а затем исследуем, как АТФ, лекарства, гормоны и другие кардинальные адсорбаты влияют на эти физиологические явления, регулируют их посредством механизма электронного контроля, о котором мы узнали из предыдущей главы. Кроме того, мы рассмотрим такие *динамические явления*, как потенциал действия и активный транспорт, без которых физиология клетки невозможна.

### 15.1. Избирательность в распределении веществ между клеткой и средой: кооперативность и регуляция

В этом разделе мы продолжим разговор о распределении ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , а также  $\text{Mg}^{2+}$  между мышечными волокнами лягушки

15.1. Избирательность в распределении веществ между клеткой и средой: кооперативность и регуляция

15.2. Регуляция ионной проницаемости

15.3. Набухание интактных и поврежденных клеток под влиянием солей

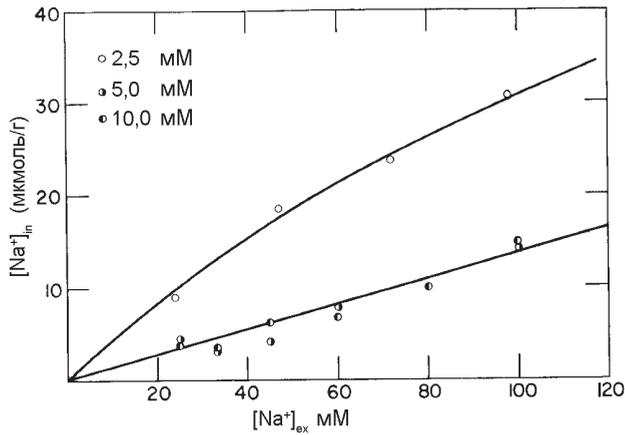
15.4. Истинный активный транспорт через бифациальные эпителиальные слои и другие бифациальные системы

15.5. Потенциал покоя

15.6. Потенциал действия

и средой. Особенно пристально мы рассмотрим влияние АТФ на состояние клеточной воды и  $K^+$ , а также влияние сердечного гликозида убаина на накопление  $K^+$  и ионов других щелочных металлов в мышцах лягушки.

Затем мы разберем вопрос о накоплении мышечными волокнами лягушки D-глюкозы и аминокислоты глицина, и о влиянии на эти процессы гормона инсулина. Кроме того, я коснусь накопления лактозы клетками бактерии *Escherichia coli* (*E. coli*).



**Рис. 54.** Зависимость равновесного распределения ионов  $Na^+$  между портняжными мышцами лягушки и средой от концентрации  $Na^+$  в среде в присутствии 2,5, 5,0 или 10 мМ  $K^+$  в омывающем растворе (при  $0^\circ C$ ). Представленные данные получены после внесения поправки на 10%-ю фракцию ионов  $Na^+$ , заключенную в межклеточном пространстве (согласно более поздним нашим данным, эта цифра составляет 9%, однако график пересмотрен не был и публикуется в том виде, в каком он был впервые опубликован в 1969 году). На оси ординат — внутриклеточное содержание  $Na^+$  в мкмоль/г сырого веса; на оси абсцисс — концентрация  $Na^+$  (в основном в виде хлорида) в среде в мМ. Нижняя группа экспериментальных данных, полученная при концентрации  $K^+$  в среде выше физиологической нормы (2,5 мМ), характеризуется линейной зависимостью с наклоном 0,14, которому соответствует коэффициент распределения ( $q$ ), равный 0,18, полученный делением тангенса угла наклона, 0,14, на содержание воды в мышечных волокнах (80%). В этих расчетах не было сделано поправки на  $Na^+$ , связанный с соединительной тканью. Чуть позднее, на основе имевшихся тогда данных, я определил, что значение  $q$  (для распределения в системе внутриклеточная вода мышечных клеток лягушки/омывающий раствор) для ионов  $Na^+$  (в виде хлорида) находится оценочно между 0,14 и 0,18; наилучшим значением представляется величина 0,15. (По Лингу [173]).

### 1. Накопление клетками ионов $K^+$ , $Na^+$ и $Mg^{2+}$

В разделе 10.2 я уделил много внимания доказательствам адсорбированного состояния клеточного  $K^+$ . Обратимся теперь к ионам, оставшимся до сих пор в тени, — к  $Na^+$  и  $Mg^{2+}$ .

На рис. 54 показана зависимость содержания  $\text{Na}^+$  в мышце лягушки от концентрации этого иона в среде при разных концентрациях  $\text{K}^+$  в омывающем растворе в условиях диффузионного равновесия (такими зависимостями характеризуют распределение веществ между клеткой и средой). Результаты в целом соответствуют уравнению Трошина (уравнение А1 в приложении), с помощью которого можно определить размеры внутриклеточных фракций свободного и адсорбированного  $\text{Na}^+$ .

Возникает вопрос: почему зависимости на рис. 54 становятся *линейными* при более высоком содержании  $\text{K}^+$  в среде? Дело в том, что в таких концентрациях ионы  $\text{K}^+$  полностью вытесняют ионы  $\text{Na}^+$  из мест связывания. В результате, в клетке вместо двух фракций этого катиона остается только одна — фракция свободных ионов  $\text{Na}^+$ . Теперь распределение этого катиона определяется только *одним* фактором — различием в растворяющей способности внутриклеточной воды и объемной. Интересно, что величина  $q$  для сахарозы (рис. 27) составляет 0,13, то есть близка к  $q$  для  $\text{Na}^+$ . Это сходство свидетельствует о том, что распределение этих, столь непохожих, веществ обусловлено одной общей причиной — особенностями внутриклеточной воды.

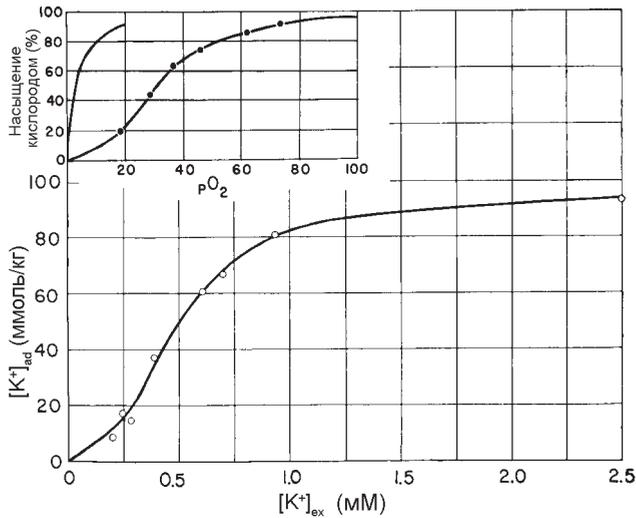
В то время, как  $\text{K}^+$  способен оказывать влияние на распределение  $\text{Na}^+$ , его влияние на распределение двухвалентного иона  $\text{Mg}^{2+}$  между мышечными клетками и яйцеклетками лягушки и средой показать не удалось [502]. В свою очередь, и  $\text{Mg}^{2+}$  не оказывает заметного влияния на распределение ионов  $\text{K}^+$ . Эти факты противоречат доннановской версии мембранной теории (раздел 4.3), в которой распределение всех ионов, способных проникать через мембрану, подчиняется одному и тому же уравнению [99, р. 216; 15, р. 28; 107, р. 17], а, значит, *должны* оказывать взаимное влияние на распределение друг друга. Этот же упрек справедлив и по отношению к уравнению Доннана для потенциала покоя (рис. 4В). С другой стороны, рассматриваемые факты полностью соответствуют теории АИ, согласно которой, прямой связи между распределением ионов и потенциалом покоя *не существует*, равно как не существует и предпосылок для влияния одновалентных ионов на распределение двухвалентных и наоборот, так как они сорбируются в клетке разными центрами.

$\text{Mg}^{2+}$ -адсорбирующие центры мышцы лягушки (с сильным родством) способны связать около 12 мкмоль этого катиона на грамм сырого веса и полностью насыщаются уже при 1 мМ  $\text{Mg}^{2+}$  в среде или еще меньше (просто 1 мМ — минимальная изученная нами концентрация). Значение  $q$  для  $\text{Mg}^{2+}$  в виде хлорида при 25 °С составляет 0,21. В первом приближении полученные данные подчиняются уравнению Трошина.

Уравнение Трошина — частный случай более общего уравнения Линга, описывающего распределение веществ между средой и клетками или модельными системами [156] (уравнение А3 в приложе-

нии). Допущения, на основе которых выведено уравнение Трошина, не учитывают *кооперативного* взаимодействия центров адсорбции между собой. Отличительная черта теории АИ, напротив, — учет *кооперативного* взаимодействия между  $\beta$ - и  $\gamma$ -карбоксильными и между ними и другими *не слишком удаленными (проксимальными) функциональными группами*. Но надо помнить о том, что при определенных условиях эта кооперативность может быть очень слабой или отсутствовать.

Автокооперативность становится заметной, когда *энергия взаимодействия ближайших центров* начинает существенно превышать



**Рис. 55.** Зависимость содержания  $K^+$  в портняжных мышцах лягушки (при  $25^\circ C$ ) от концентрации  $K^+$  в среде в условиях диффузионного равновесия. Концентрацию  $K^+$  в среде варьировали в пределах физиологической нормы, в то время как концентрация  $Na^+$  поддерживалась на постоянном уровне — 100 мМ. S-образная форма кривой напоминает кривую поглощения кислорода эритроцитами человека, приведенную во врезке (кривая справа); левая кривая — поглощение кислорода изолированным миоглобином [440]. (По Лингу [439]).

ноль ( $-\gamma/2 \gg 0$ ), а это происходит при достаточно больших различиях в энергии адсорбции конкурирующих адсорбатов (подробности см. в работе [107, pp. 139–140]), как в случае, когда мышечные волокна лягушки находятся в среде с высоким уровнем  $Na^+$  и *очень низким* уровнем  $K^+$ . На рис. 55 изображен выраженный автокооперативный процесс — поглощение  $K^+$  мышечными клетками, так как соответствующий график имеет S-образную форму, подобно кривой поглощения кислорода эритроцитами человека, приведенной на врезке. При этом поглощение кислорода миоглобином (кривая

слева на врезке) не обладает признаками автокооперативности, то есть центры связывания не оказывают друг на друга существенного влияния, что характерно для адсорбции по Ленгмюру.

Замечу в скобках, что *линейный* характер распределения веществ между клеткой и средой с наклоном меньше единицы *принципиально несовместим с идеей насосов* (речь идет о данных, приведенных на рис. 26, 27 и 54). Если низкая концентрация какого-либо вещества в клетке (по сравнению со средой) поддерживается работой насоса, выкачивающего его, то распределение такого вещества не может быть линейным потому, что будет определяться весьма ограниченным числом насосов по сравнению с количеством перекачиваемых ионов или молекул [174], то есть мы всегда должны будем наблюдать кривую с *насыщением* по мере роста (в 4—9 раз) внутриклеточной концентрации «пассажира», которого необходимо вывезти из клетки в среду. При столь значительном росте «спроса» свободных «такси» на всех не хватит.

## 2. Влияние АТФ на растворяющую способность клеточной воды

После создания теории фиксированных зарядов Линга (ТФЗЛ) одним из лейтмотивов теории АИ стала количественная связь между уровнем АТФ и внутриклеточным равновесным содержанием  $K^+$ . Экспериментальные подтверждения реальности такой связи мы находим в литературе.

Связь между содержанием АТФ и  $K^+$  была обнаружена в самых разных клетках и их моделях, в том числе: в замкнутых телях эритроцитов, содержащих лишь остаточные количества гемоглобина и других белков [140] (рис. 33); в консервированных эритроцитах человека [94, pp. 253–254] и в эритроцитах ряда млекопитающих [191]; в бактериях *E. coli* [98, p. 255]. Во всех перечисленных случаях диффузионное равновесие достигалось быстро, так как проницаемость для  $K^+$  и  $Na^+$  у исследованных клеток высока. Однако *свежие* эритроциты человека, напротив, слабо проницаемы для  $K^+$  и  $Na^+$  [465], и достижение равновесия становится чрезвычайно продолжительным процессом. По этой причине на таких клетках становится весьма затруднительным исследование *in vitro* взаимосвязи АТФ– $K^+$ , предсказываемой теорией АИ [370]. Чаще всего зависимость между уровнями АТФ и  $K^+$  изучали на мышцах лягушки [107, pp. 192–193]. В частности, именно на этом объекте получены данные, показанные на рис. 17, 19 и 56. На последнем рисунке видно, кроме того, что с содержанием АТФ связано и содержание  $Na^+$  в клетке.

Согласно теории МОПВ, чем больше размер молекулы растворенного вещества (таких, как сахароза, например) или ассоциата (гидратированный  $Na^+$ , например), тем меньше коэффициент их распределения ( $q$ ) между клеткой и средой. С другой стороны, чем больше в клетке связанной воды (с ее многослойной организацией), тем меньше величина  $q$  для данного растворенного вещества (раздел 11.3, п. 4) и наоборот. Но количество связанной воды зависит в