

Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургский государственный университет»

А.Н. Никиян, О.К. Давыдова

БИОФИЗИКА

Конспект лекций

Рекомендовано Ученым советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет»
в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по программам высшего профессионального образования по специальности 010708.65 Биохимическая физика и направлениям подготовки 020400.62 Биология и 260200.62 Продукты питания животного происхождения

Оренбург
2013

УДК 577.3 (075.8)
ББК 28.071ЯЗ
Н 62

Рецензент – кандидат биологических наук А.Н. Сизенцов

Никиян, А.Н.

Н 62 Биофизика: конспект лекций / А.Н. Никиян, О.К. Давыдова; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2013. – 104 с.

В конспекте лекций по биофизике изложены предмет и задачи биофизики, основы биологической термодинамики и молекулярной биофизики, свойства и функции биологических мембран, трансмембранный транспорт, методы моделирования биологических процессов. Также рассмотрены основы биомеханики мышечного сокращения и системы кровообращения.

Конспект лекций предназначен для студентов очной формы обучения, обучающихся по программам высшего профессионального образования по специальности 010708.65 Биохимическая физика и направлениям подготовки 020400.62 Биология и 260200.62 Продукты питания животного происхождения.

УДК 577.3 (075.8)
ББК 28.071ЯЗ

© Никиян А. Н.,
Давыдова О.К., 2013
© ОГУ, 2013

Содержание

1 Биофизика как наука.....	5
1.1 Основные разделы дисциплины. Задачи биофизики.....	6
1.2 Методология биофизики и системный подход.....	8
2. Термодинамика биологических процессов.....	11
2.1 Первый и второй законы термодинамики.....	13
2.2 Термодинамические потенциалы.....	16
2.3 Свободная энергия и электрoхимический потенциал.....	18
2.4 Особенности организмов как термодинамических систем.....	19
2.5 Термодинамика стационарного состояния.....	21
3 Основы молекулярной биофизики.....	24
3.1 Предмет, задачи и объекты изучения молекулярной биофизики.....	24
3.2 Общая характеристика структуры биополимеров.....	24
3.3 Виды взаимодействий в макромолекулах.....	27
3.4 Структура воды и гидрофобные взаимодействия.....	29
3.5 Роль гидрофобных взаимодействий в формировании структуры белка...31	
3.6 Связывание лигандов с макромолекулами.....	32
3.7 Кооперативное связывание лигандов.....	33
3.8 Ферментный катализ.....	35
4. Биофизика мембран.....	37
4.1. Структура и функции биологических мембран.....	37
4.2 Динамика мембран.....	41
4.3 Физическое состояние и фазовые переходы липидов в мембранах.....	43
4.4 Модельные липидные мембраны.....	44
5 Транспорт веществ через биологические мембраны.....	47
5.1 Пассивный транспорт нейтральных частиц.....	48
5.2 Пассивный транспорт ионов.....	50
5.3 Облегченная диффузия.....	52
5.4 Осмос и фильтрация.....	53
5.5 Ионные каналы.....	54

5.6 Активный транспорт.....	58
5.7 Вторичный активный транспорт ионов.....	62
6 Биоэлектрические потенциалы.....	65
6.1 Потенциал покоя в клетках.....	65
6.2 Потенциал действия.....	67
7 Биофизика мышечного сокращения.....	73
7.1 Биомеханика мышцы.....	75
7.2 Электромеханическое сопряжение в мышцах.....	79
8 Моделирование биофизических процессов.....	82
8.1 Математические модели роста численности популяции.....	85
8.1.1 Модель естественного роста численности популяции (модель Мальтуса).....	86
8.1.2 Модель изменения численности популяции с учетом конкуренции между особями (модель Ферхюльста).....	87
8.1.3 Модель «хищник-жертва» (модель Вольтерра).....	88
8.2 Фармакокинетическая модель.....	90
9 Элементы биофизики кровообращения.....	94
9.1 Реологические свойства крови.....	94
9.2 Основные законы гемодинамики.....	97
9.3 Кинетика кровотока в эластичных сосудах. Пульсовая волна.....	100
9.4 Фильтрация и реабсорбция жидкости в капилляре.....	102
Список использованных источников.....	104

1 Биофизика как наука

Биофизика (от др.-греч. βίος — *жизнь*, φύσις — *природа*) - это междисциплинарная наука о физических процессах, протекающих в биологических системах разного уровня организации и о влиянии на биологические объекты различных физических факторов. Биофизика призвана выявлять связи между физическими механизмами, лежащими в основе организации живых объектов и биологическими особенностями их жизнедеятельности. Обобщённо можно сказать, что биофизика изучает особенности функционирования физических законов на биологическом уровне организации вещества.

Первым, кто сказал, что живые объекты подчиняются тем же законам и содержат те же частицы материи, что и неживые, был греческий философ Эпикур (примерно 300 лет до нашей эры). Существенный вклад в физиологическую оптику сделали грек Гален и его комментатор египтянин Алхазени. Они правильно описали возникновение изображения на сетчатке. Их работы были продолжены и развиты великим Леонардо да Винчи (1452-1519).

Изучение физических свойств биологических объектов началось в XVII веке – с тех пор, когда были заложены основы первого раздела физики - механики. В биологии в то время наиболее интенсивное развитие получила анатомия. В этот период опубликованы работы У. Гарвея (1628) «Кровообращение»; Р. Декарта (1637) «Диоптика»; Дж. Борелли (1680) «О движении животных», в которых были представлены основы биомеханики. В 1660 году А. Левенгук изобрел микроскоп, который сразу же нашел широчайшее применение в биологических исследованиях, став, по сути, первым истинно биофизическим методом изучения живой природы.

В XVIII веке в физике происходит развитие разделов гидродинамики, теории газовых состояний, термодинамики, закладываются основы учения об электричестве. В математике формируются методы дифференциального и интегрального исчисления. Ф.Лейбниц предложил понятие «живой силы» в

противовес количеству движения. В это время описаны основные принципы гемодинамики, которые позже стали относить к биофизике (Л.Эйлер). Классические эксперименты А. Лавуазье и П. Лапласа, позволившие установить аналогичную природу процессов дыхания и горения, указать на кислород как источник теплоты, опубликованы в трактате «О теплоте» (1783). А. Лавуазье и Ж. Сегэн в «Мемуарах о дыхании животных» описали связь потребления кислорода с совершаемой механической работой.

Следующий серьезный шаг в развитии биофизики связан с открытием Л. Гальвани биологического электричества (1791). Он обнаружил феномен подергивания лягушачьих лапок в ответ на электрический разряд и предположил главную роль электричества в нервно-мышечной передаче. Л. Гальвани установил количественную зависимость раздражения и возбуждения, ввел понятие «порога». В 1837 г. Ф.Маттеучи, используя гальванометр, впервые зарегистрировал электрический потенциал живых клеток.

В XIX веке классическая физика сформировалась уже в том виде, как мы знаем ее сегодня. На границе XIX-XX веков шло формирование и биофизики как комплексной и целостной системы знаний о живой природе. Сегодня биофизика включает целый ряд разделов, каждый из которых сформировался в самостоятельное научное направление.

1.1 Основные разделы дисциплины. Задачи биофизики

Современная биофизика, согласно классификации, принятой Международным союзом теоретической и прикладной биофизики, включает следующие основные разделы:

- 1) молекулярная биофизика, в задачу которой входит исследование физических и физико-химических свойств макромолекул и молекулярных комплексов, составляющих живые организмы, а также характера взаимодействия и энергетики протекающих в них процессов;

2) биофизика клетки, изучающая физико-химические основы функции клетки, связь молекулярной структуры мембран и клеточных органелл с их функцией, механические и электрические свойства, энергетику и термодинамику клеточных процессов;

3) биофизика сложных систем, которая занимается исследованием и моделированием внутренних связей системы управления в организмах, их физической природой, исследованием физических закономерностей живого на уровне целого организма.

Однако круг проблем, которыми занимается биофизика, оказывается намного шире. Так к биофизике относятся: изучение влияния физических факторов на организм; исследование биологического действия ионизирующих и неионизирующих излучений, которое в связи с важностью и актуальностью этого вопроса стало предметом радиобиологии, специальной науки, выделившейся из биофизики. Физический анализ деятельности органов чувств, в первую очередь оптики глаза, анализ работы органов движения, дыхания, кровообращения как физических систем, вопросы прочности и эластичности тканей. Важное значение имеет и разработка физических методов исследования биологических систем - от макромолекул до целого организма, без которых невозможно современное биологическое исследование.

К задачам биофизики относят:

1 Раскрытие общих закономерностей поведения открытых неравновесных систем. Теоретическое обоснование термодинамических основ жизни.

2 Научное истолкование явлений индивидуального и эволюционного развития, саморегуляции и самовоспроизведения.

3 Выяснение связей между строением и функциональными свойствами биополимеров и других биологически активных веществ.

4 Создание и теоретическое обоснование физико-химических методов исследования биообъектов.

5 Физическое истолкование обширного комплекса функциональных явлений (генерация и распределение нервного импульса, мышечное сокращение, рецепция, фотосинтез и др.).

1.2 Методология биофизики и системный подход

Биофизические методы исследования характеризуются рядом общих свойств.

Во-первых, биофизика оперирует количественными методами, позволяющими измерить и объективно оценить исследуемое явление. Этот методологический принцип привнесён из физики.

Во-вторых, биофизика рассматривает изучаемый объект в целом, не расчленяя его. Естественно, что любое измерение неизбежно вносит в изучаемую систему некоторые возмущения, но биофизические методы стремятся свести это возмущение к минимуму. По этой причине в настоящее время широкое распространение в биофизике получают такие методы, как спектроскопия, исследование взаимодействия света с веществом, флуоресцентные методы исследований.

В-третьих, важным методологическим принципом биофизики является «стратегия системного подхода». Биофизические методы основываются на структурно-функциональных взаимосвязях в живых системах, как основном принципе их организации.

Под системным подходом понимают направление методологии научного познания и практики, в основе которого лежит рассмотрение сложного объекта как системы со всеми отношениями и связями между ними. *Системой*, в свою очередь, называют множество элементов, находящихся в отношениях и связях друг с другом, которое образует определённую целостность, единство.

Системное познание предполагает:

1) рассмотрение объекта деятельности (теоретической и практической) как системы, т.е. как ограниченного множества взаимодействующих элементов;

2) определение состава, структуры и организации элементов и частей системы, обнаружения главных связей между ними;

3) выявление внешних связей системы, выделения из них главных;

4) определение функции системы и ее роли среди других систем;

5) анализ структуры и функции системы;

6) обнаружение на этой основе закономерностей и тенденций развития системы.

Что же можно отнести к живым системам? Основными системами живого, образующими различные уровни организации, в настоящее время признаются:

1) вирусы - системы, состоящие в основном из двух взаимодействующих компонентов: молекул нуклеиновой кислоты и молекул белка;

2) клетки - системы, состоящие из ядра, цитоплазмы и оболочки; каждая из этих подсистем, в свою очередь, состоит из особенных элементов;

3) многоклеточные системы (организмы, популяции одноклеточных);

4) виды, популяции - системы организмов одного типа;

5) биоценозы - системы, объединяющие организмы различных видов;

6) биосфера - система живой материи на Земле.

Система каждого уровня отличается от других уровней и по структуре, и по степени организации. Взаимодействие элементов системы не обязательно предполагает жесткую, постоянную связь. Эта связь может носить временный, случайный, генетический, целевой характер.

В целом живая природа, также как и неживая, представляет собой систему систем, причем она дает удивительные примеры разнообразия систем,

которые нередко оказываются объединением элементов различных уровней. Например, ландшафт как система включает в себя:

1) абиотические геосистемы (земная кора с рельефами, атмосфера, гидросфера и криосфера);

2) геосистемы почвенной сферы;

3) биотические геосистемы, образующие биосферу;

4) социально-экономические геосистемы, возникшие в результате общественно-исторической деятельности человека. Все эти системы связаны между собой и воздействуют друг на друга, образуя единую саморегулирующуюся систему. Изменение любой составной части ландшафта ведет, в конечном счете, к изменению его в целом. Вместе с тем, каждая система живой природы, являясь ее элементом и определяясь ею, в то же время имеет достаточную самостоятельность саморазвития, чтобы выйти на другой уровень организации материи.

Мир представляет собой единство систем, находящихся на разном уровне развития, причем каждый уровень служит средством и основой существования другого, более высокого уровня развития систем.

Одним из основных законов существования Вселенной является существование одних систем за счет других. Например, кристаллы возникают на материале базовой породы, раствора или расплава; растения преобразуют минералы, животные развиваются за счет растений и других животных; человек для своего существования преобразует и животных, и растения и системы неживой природы.

2 Термодинамика биологических процессов

Способность поглощать, трансформировать энергию в различных формах и использовать ее в процессах метаболизма для обеспечения роста, развития, размножения составляет одно из важнейших свойств живых систем. Общие закономерности процессов энергообмена, сопровождающих биохимические превращения, изучают с помощью методов классической термодинамики, где рассматривают трансформацию энергии в химических процессах при совершении полезной работы.

На этом пути были получены важные результаты по оценке изменения (увеличение или уменьшение) свободной энергии в различных биохимических процессах, на основании чего можно было судить о термодинамической возможности их сопряжения.

Метаболические процессы, окислительно-восстановительные реакции, синтез и гидролиз макроэргических соединений, транспорт веществ и ионов через мембраны, двигательная активность, утилизация энергии света в фотосинтезе, связанные с трансформацией энергии, подчиняются закону сохранения энергии, или первому закону термодинамики. Однако из непосредственного рассмотрения этого закона выпадает фактор времени, характеризующий сам процесс перехода, поскольку оценку энергетических эффектов тех или иных превращений получают путем сравнения параметров начального и конечного состояний системы.

Согласно второму закону термодинамики, вводят величину, называемую энтропией, которая в изолированной системе всегда возрастает при достижении равновесия до своего максимального значения. Закон увеличения энтропии в изолированных системах является критерием эволюции на пути достижения конечного равновесного состояния. Однако в открытой системе в равновесном состоянии не происходит никаких направленных процессов, кроме случайных флуктуаций около положения равновесия, что равносильно прекращению существования биологической системы.

Следует, однако, отметить, что методы термодинамики применимы только к макроскопическим системам, состоящим из большого числа частиц. Система, которая не может обмениваться со средой ни энергией, ни веществом, называется *изолированной*, если происходит обмен только энергией, то система называется *замкнутой*, а если и энергией и веществом – *открытой*. Живой организм в целом система открытая. И лишь в отдельных частях клетки могут существовать условия, характерные для замкнутой и даже изолированной системы.

Всякая система характеризуется определенными свойствами, или термодинамическими параметрами. Их совокупность определяет термодинамическое состояние системы, поэтому изменение хотя бы одного из параметров приводит к изменению термодинамического состояния системы в целом.

Термодинамические процессы - это процессы обмена энергией и веществом или переход энергии из одной формы в другую. Процессы, протекающие в системе и изменяющие ее состояние, могут быть равновесными или неравновесными. *Равновесные*, или обратимые, *процессы* протекают в системе таким образом, что вызванные ими изменения в состоянии системы могут произойти в обратной последовательности без дополнительных изменений в окружающей среде. Наоборот, *неравновесные*, или необратимые, *процессы*, к которым относятся реальные превращения в природе, не обладают этими свойствами, и их протекание в обратном направлении сопровождается остаточными изменениями в окружающей среде. В классической термодинамике рассматриваются главным образом равновесные состояния системы, при которых ее параметры сохраняют свое значение во всех точках системы и не изменяются самопроизвольно во времени.

Основная задача термодинамики – однозначное описание изменений в термодинамической системе при её переходе из одного состояния в другое.

Связи между параметрами системы называют уравнениями состояния. Изменение любого из параметров приводит к изменению состояния системы.

Переход системы от одного состояния к другому происходит в результате различных процессов, которые подчиняются законам термодинамики.

2.1 Первый и второй законы термодинамики

Первый закон термодинамики является обобщением закона сохранения и превращения энергии для термодинамической системы. Обычная его запись имеет вид:

$$\delta Q = dU + \delta A \quad (2.1)$$

и означает, что количество теплоты δQ , поглощенное системой из внешней среды, идет на увеличение ее внутренней энергии dU и совершение общей работы dA , которая включает работу против сил внешнего давления p по изменению объема dV системы и максимальную полезную работу dA_n , сопровождающую химические превращения:

$$\delta A = pdV + \delta A_n \quad (2.2)$$

Попытки проверить опытным путем справедливость первого закона термодинамики для биологических объектов предпринимались уже давно. Лавуазье и Лаплас (1780) измеряли в ледяном калориметре количество теплоты и CO_2 , выделяемого организмом морской свинки, а затем сравнивали полученные величины с тепловым эффектом реакции сжигания исходных продуктов питания до CO_2 . Такого рода измерения показали, что потребление одного литра O_2 и выделение одного литра CO_2 при прямом сжигании или окислении в организме продуктов сопровождается выделением 21,2 кДж теплоты. Совпадение тепловых эффектов в обоих случаях и для других реакций свидетельствует, очевидно, о том, что пути превращения продуктов питания в метаболических процессах и в химических реакциях вне живой клетки являются эквивалентными с точки зрения суммарных тепловых эф-

фектов. Иными словами, для процессов метаболизма также справедлив известный в физической химии закон Гесса, что дает возможность рассчитывать тепловые эффекты сложных биохимических циклов, если известны лишь их начальные и конечные продукты.

Прямые опыты показали, что количество энергии, поглощенной за сутки человеческим организмом вместе с питательными веществами, равно выделенной за это же время теплоте. Этот результат подтверждает справедливость для организмов первого закона термодинамики. *Следовательно, сами по себе организмы не являются независимым источником какой-либо новой формы энергии.*

Первый закон термодинамики свидетельствует только о сохранении энергии, но не указывает направления, в котором могут осуществляться термодинамические процессы. Возможное направление термодинамических процессов является предметом второго закона термодинамики.

Второй закон термодинамики указывает, что все реальные процессы (в том числе в биологических системах), сопровождаются рассеянием некоторой части энергии в теплоту. Все формы энергии (механическая, химическая, электрическая и т.п.) могут быть превращены в теплоту без остатка. Но сама теплота не может превращаться полностью в другие формы энергии. Не существует двигателя или процесса, который бы преобразовывал теплоту в другую форму энергии с 100 % эффективностью. Как известно, рассеяние теплоты означает энергетическое разложение. Теплота – деградированная форма энергии, поскольку термическое движение молекул беспорядочный и вероятностный процесс. Таким образом, энергетическое рассеивание в форме теплоты необратимо.

Согласно второму закону термодинамики, каждый реальный процесс, происходящий в термодинамической системе, может осуществляться только в одном направлении. Противоположный процесс, при котором как система, так и окружающая среда возвращались бы в их первоначальные состояния, невозможен.

Одна из формулировок второго закона термодинамики (по Клазиусу) указывает, что теплота не может передаваться самопроизвольно от тела, обладающего более низкой температурой, телу с более высокой температурой. Любой реальный процесс является в той или иной мере необратимым.

Направление спонтанных процессов в изолированных системах характеризуется параметром состояния, который называется *энтропией* (от др.-греч. ἐντροπία – превращение). Изменение энтропии системы dS определяется отношением теплоты δQ , введённой в систему или выведенного из системы, к абсолютной температуре T системы, при которой этот процесс происходит:

$$dS \geq \delta Q/T. \quad (2.3)$$

Знак неравенства относится к неравновесным процессам. В изолированных системах $\delta Q = 0$ и, следовательно,

$$dS \geq 0. \quad (2.4)$$

В этом и состоит эволюционный критерий направленности необратимых изменений в изолированных системах, которые всегда идут с увеличением энтропии до ее максимальных значений при окончании процесса и установлении термодинамического равновесия. Увеличение энтропии означает падение степени упорядоченности и организованности в системе, ее хаотизацию.

Энтропия системы имеет тесное отношение к показателю упорядоченности или беспорядка составляющих системы. Согласно принципу Больцмана, энтропия системы S в данном состоянии пропорциональна термодинамической вероятности W этого состояния:

$$S = k \ln W, \quad (2.5)$$

где k – константа Больцмана.

Термодинамическая вероятность является числом микросостояний системы, посредством которых реализуется данное макросостояние системы. Чем больше возможно микросостояний (вариантов расположения частиц), тем более неупорядочена система, тем больше величины W и S .

Каждая система стремится к переходу из менее вероятного высокоупорядоченного состояния в статистически более вероятные состояния, характеризующиеся беспорядочным расположением молекул. Можно сказать, что каждая система характеризуется тенденцией самопроизвольного перехода к состоянию максимального молекулярного беспорядка или хаоса.

2.2 Термодинамические потенциалы

По изменению ΔU и ΔS нельзя оценить величину производимой работы, их начальных и конечных значений. Для этого вводят термодинамические потенциалы, которые выводятся из объединенной записи первого и второго законов термодинамики.

Объединённая запись первого и второго законов термодинамики:

$$\begin{aligned}\delta Q &= TdS, \\ TdS &= dU + \delta A,\end{aligned}$$

где δA – совершаемая работа – это свободная энергия;

TdS – рассеянная в виде тепла – связанная энергия;

dU – изменение внутренней энергии.

Для количественной оценки свободной энергии необходимо наложить ограничения:

1. При постоянном давлении p работа по изменению объёма будет равна pdV , а количество теплоты будет отражать изменение энтальпии – тепло-содержание системы:

$$dH=dU+pdV$$

$$H=U+pV$$

Т.е. энтальпия равна количеству теплоты, выделяемой системой.

2. При постоянных V и T рассчитывается свободная энергия Гельмгольца. Совершаемая работа условно состоит из двух компонент (2.2):

$$TdS= dU+ \delta A_n+ p\Delta V,$$

где A_n – полезная работа.

Так как по условию $p\Delta V=0$:

$$- \delta A_n= dU- TdS=dF,$$

где dF – свободная энергия Гельмгольца:

$$F=U-TS.$$

3. При постоянных p и T рассчитывается свободная энергия Гиббса dG :

$$- \delta A_n= dU+ p\Delta V- TdS=dH-TdS=dG,$$

$$G=H-TS.$$

Свободная энергия Гиббса соответствует состоянию системы, при котором давление и температура являются постоянными, поэтому этот термодинамический потенциал употребляют для описания биологических систем. Полезная работа в таких системах выполняется за счет уменьшения потенциала Гиббса.

2.3 Свободная энергия и электрохимический потенциал

Величина свободной энергии Гиббса, приходящейся на один ион вещества, называется электрохимическим потенциалом $\Delta\mu$:

$$\Delta G = m \cdot \Delta\mu,$$

где m – количество вещества (моли) в системе.

Изменение электрохимического потенциала при переходе системы из состояния 1 в состояние 2 определяется изменением химической, осмотической и электрической энергий:

$$\Delta\mu = \mu_{02} - \mu_{01} + RT \ln (c_2/c_1) + zF (\varphi_2 - \varphi_1),$$

где F – заряд моля одновалентных ионов (число Фарадея) $F = N_A \cdot e = 9,65 \cdot 10^7$ Кл/кмоль;

N_A – число молекул в моле вещества (число Авогадро), $N_A = 6,02 \cdot 10^{26}$ кмоль⁻¹;

z – заряд иона в единицах элементарного заряда;

R – универсальная газовая постоянная, равная $8,31 \cdot 10^3$ Дж/(кмоль·К);

T – абсолютная температура (К);

c – молярная концентрация;

φ – электрический потенциал;

μ_{01} и μ_{02} – химические потенциалы в состоянии 1 и 2.

Физический смысл электрохимического потенциала заключается в том, что его изменение равно работе, которую необходимо затратить, чтобы:

1) синтезировать 1 моль вещества (состояние 2) из исходных веществ (состояние 1) и поместить его в растворитель (слагаемое $\mu_{02} - \mu_{01}$) – химическая работа;

2) сконцентрировать раствор от концентрации c_1 до c_2 (слагаемое $RT \ln(c_2/c_1)$) – осмотическая работа;

3) преодолеть силы электрического отталкивания, возникающие при наличии разности потенциалов $(\varphi_2 - \varphi_1)$ между растворами (слагаемое $zF(\varphi_2 - \varphi_1)$) – электрическая работа.

Необходимо отметить, что слагаемые могут быть как положительными, так и отрицательными.

Рассмотрим в качестве примера, как изменяется величина электрохимического потенциала при переносе ионов Na через мембрану нервной клетки. Этот процесс совершается ферментом Na^+ , K^+ -АТФ-азой и обеспечивается энергией гидролиза АТФ. Ион натрия при этом переносится из клетки наружу. Концентрация Na^+ внутри клеток (c_1) равна 0,015 моль/л, а снаружи (c_2) – 0,15 моль/л. Осмотическая работа на каждый моль перенесенного иона при 37°C равна: $RT \ln(0,15/0,015) = 5,9 \text{ кДж/моль}$.

Внутри клетки электрический потенциал составляет $\varphi_1 = -60 \text{ мВ}$, если принять наружный потенциал $\varphi_2 = 0$. Электрическая работа составляет: $zF\Delta\varphi = 9,65 \cdot 10^4 \text{ Кл/моль} \cdot 60 \cdot 10^{-3} \text{ В} = 5,8 \text{ кДж/моль}$.

Так как с Na^+ при его переносе через мембрану, в конечном счете, не происходит никаких химических превращений, и он оказывается примерно в таком же водном окружении, что и раньше, то $\Delta\mu_0 = 0$. Отсюда по уравнению находим $\Delta\mu = 0 + 5,9 + 5,8 = 11,7 \text{ кДж/моль}$.

2.4 Особенности организмов как термодинамических систем

При применении термодинамики к биологическим системам необходимо учитывать особенности организации живых систем:

- 1) биологические системы открыты для потоков вещества и энергии;
- 2) процессы в живых системах, в конечном счете, имеют необратимый характер;
- 3) живые системы далеки от равновесия;

4) биологические системы гетерофазны, структурированы, и отдельные фазы могут иметь небольшое число молекул.

Все это отличает биологические системы от изолированных и близких к состоянию равновесия систем, в которых, рассматриваются обратимые процессы в гомогенной среде, содержащей огромное множество молекул. Для более адекватного описания свойств биологических систем во многих случаях полезно применение термодинамики необратимых процессов, основателями которой считают лауреатов Нобелевской премии по химии Ларса Онзагера и Илью Пригожина.

В отличие от классической термодинамики, в термодинамике необратимых процессов рассматривается ход процессов во времени. Фундаментальное понятие классической термодинамики - равновесное состояние. В термодинамике необратимых процессов столь же важным понятием можно считать стационарное состояние системы.

Различие между равновесием и стационарным состоянием хорошо видно на примере ионного баланса клетки. Концентрация K^+ внутри клеток теплокровных примерно в 15 раз выше, чем во внеклеточной среде, но это не приводит к выходу этих ионов из клетки, так как на клеточной мембране имеется потенциал со знаком минус внутри клетки, который удерживает K^+ от выхода из цитоплазмы. Система близка к равновесию, условия которого описываются известным уравнением Нернста. Иная ситуация с ионами Na^+ . Их концентрация в клетке примерно в 15 раз меньше, чем в окружающей среде. Постоянный градиент концентрации и разность потенциалов на мембране приводят к тому, что имеется хотя и небольшое, но постоянное просачивание ионов Na^+ в клетку. Тем не менее, постоянная концентрация ионов Na^+ в клетке поддерживается насосами, выкачивающими этот ион и работающими за счет энергии гидролиза АТФ.

Из этого примера видно, что в отличие от термодинамического равновесия стационарное состояние характеризуется:

1) постоянным притоком веществ в систему и удалением продуктов обмена (в данном случае — приток АТФ и удаление Na^+);

2) постоянной затратой свободной энергии, которая поддерживает постоянство концентраций веществ в системе;

3) постоянством термодинамических параметров (включая внутреннюю энергию и энтропию) системы, находящейся в стационарном состоянии.

Система в стационарном состоянии является открытой системой и может существовать лишь за счет притока энергии извне (в форме АТФ в нашем примере) и оттока энергии в окружающую среду (в нашем случае в форме тепла). В биологических системах наиболее важными потоками являются потоки вещества и электрических зарядов.

2.5 Термодинамика стационарного состояния

Теорию термодинамики линейных необратимых процессов сформулировал Онзагер. Экспериментальной основой этой теории являются феноменологические законы, которые устанавливают линейную зависимость между потоками и силами их вызывающими. Допустим, что в системе имеются два потока - поток тепла (Φ_1) и диффузионный поток массы (Φ_2) и две обобщающие силы - разность температур X_1 и разность концентраций X_2 . Согласно Онзагеру, в открытой системе каждый поток зависит от всех присутствующих сил, и наоборот, то есть

$$\begin{aligned}\Phi_1 &= L_{11}X_1 + L_{12}X_2 \\ \Phi_2 &= L_{21}X_1 + L_{22}X_2,\end{aligned}\tag{2.5}$$

где L_{12} и др.- коэффициенты пропорциональности между потоком 1 и силой 2 и т.д.

Эти уравнения называются *феноменологическими уравнениями Онзагера*. Они указывают на зависимость входных и выходных потоков, как от

сопряженных, так и от несопряженных им сил. Как показал Онзагер, вблизи равновесия коэффициенты пропорциональности между потоками равны друг другу ($L_{12} = L_{21}$). Иначе говоря, равное действие вызывает равную ответную реакцию. Например, тормозящее действие, которое оказывает движущийся растворитель на растворенное вещество, равно сопротивлению, которое растворенное вещество оказывает на растворитель.

В природе существует ситуация, когда потоки, идущие с повышением энергии, самостоятельно идти не могут, но могут протекать при действии каких-либо сил. Это явление называется *сопряжением потоков*. Критерием возможности сопряжения потоков в системе является положительное значение диссипативной функции

$$\psi = \frac{T}{V} \frac{dS}{dt} \geq 0,$$

где T - абсолютная температура;

dS/dt - скорость продукции энтропии;

V - объем системы.

Диссипативная функция является мерой рассеяния энергии системы в тепло. Она определяет скорость возрастания энтропии в системе, в которой протекают необратимые процессы. Чем выше величина диссипативной функции, тем быстрее энергия всех видов превращается в тепловую. Кроме этого диссипативная функция определяет возможность самопроизвольного протекания процесса: при $\psi > 0$ процесс возможен, при $\psi < 0$ – нет.

Термодинамика показывает, что если система неравновесна, но близка к равновесию, то ψ может быть представлена суммой произведений обобщенных сил - X_i и обобщенных потоков - Φ_i , то есть суммой мощностей процессов $\psi = \sum \Phi_i X_i \geq 0$. Положительное значение диссипативной функции ψ означает, что в любом преобразователе энергии входная мощность должна превышать выходную. В большинстве биологических процессов происходит

преобразование химической энергии в осмотическую, электрическую и механическую. Во всех этих процессах происходит диссипация части химической энергии в тепло. Для биологических процессов эффективность сопряжения составляет от 80 % до 90 %, то есть всего от 10 % до 20 % энергии переходит в тепло.

Стационарное состояние открытой системы характеризуется *теоремой Пригожина*: в стационарном состоянии при фиксированных внешних параметрах скорость продукции энтропии в системе постоянна по времени и минимальна по величине.

Если критерием эволюции системы в классической термодинамике является то, что энтропия для необратимых процессов в изолированной системе стремится к максимальной величине (критерий Клаузиуса), то в открытой системе производство энтропии стремится к минимуму (критерий Пригожина). Критерий Пригожина ($\Delta\psi > 0$) - критерий устойчивости – при отклонении от устойчивого состояния $\Delta\psi < 0$. Это является доказательством того, что второй закон термодинамики выполняется в живой природе.

Из теоремы Пригожина следует, что, если система выведена из стационарного состояния, то она будет изменяться до тех пор, пока удельная скорость продукции энтропии не примет наименьшего значения. То есть пока диссипативная функция не достигнет минимума.

Следствием теоремы Пригожина является принцип Ле-Шателье. Если термодинамическую систему вывести из состояния равновесия, в ней возникнут силы и потоки, стремящиеся вернуть систему в исходное состояние равновесия.

3 Основы молекулярной биофизики

3.1 Предмет, задачи и объекты изучения молекулярной биофизики

Молекулярная биофизика изучает физическую структуру биологически важных молекул и физические процессы, лежащие в основе их функционирования. Основными объектами молекулярной биофизики являются белки и нуклеиновые кислоты. Кроме этого молекулярная биофизика изучает полисахариды. Под структурой молекулы понимают расположение в пространстве всех её атомов. В молекулярной биофизике характеристика молекулы включает в себя структурную химическую формулу, длины всех связей и углы между связями, распределение зарядов на поверхности, подвижность отдельных участков и изменчивость структуры в зависимости от параметров среды: температуры, ионной силы, рН, наличия определенных ионов. Основная задача молекулярной биофизики – выяснение связи физической структуры и свойств биологически важных молекул с выполняемой ими в организме функцией.

3.2 Общая характеристика структуры биополимеров

Первая особенность молекул, синтезируемых в живой клетке – их стереоспецифичность (*хиральность*). Стереоспецифические молекулы могут существовать в виде двух зеркально симметричных форм – стереоизомеров: правой (D-форма «+») и левой (L-форма «-»). Асимметрия определяет специфичность биохимических реакций. Стереоизомеры обладают одинаковой химической активностью, однако в живой природе хиральные соединения существуют обычно в какой-то одной форме. Организм различает L – и D-изомеры при поглощении извне и синтезируют соединения в одной стереоконфигурации. В живых организмах аминокислоты присутствуют в L-форме, а углеводы в D-форме.

Макромолекулы обладают несколькими видами изомерии. Различные изомеры одного и того же соединения, переход между которыми возможен только при условии разрыва и образования новых ковалентных связей, называются *конфигурациями* этого соединения. Примером конфигураций являются L- и D-изомеры. Если же переход из одного изомера в другой осуществляется за счет поворота вокруг одинарных ковалентных связей без их разрыва, то такие изомеры называются *конформациями*.

Вокруг одинарных атомных связей в молекуле может осуществляться вращение. Установлено, что не все значения углов поворота равновероятны. Наиболее вероятны значения углов поворота кратные 120° . В этом случае молекула находится в *транс-конформации*. Наименее вероятными считаются значения углов поворота – 60° , 180° , 300° . В этом случае молекула находится в *цис-конформации*. Причины, по которым транс-конформация является более выгодной, чем цис-, имеют квантово-механическую природу и заключаются в отталкивании близко расположенных валентно не связанных атомов, а также во взаимодействиях связей, примыкающих к оси вращения (*эффект ориентации связей*). Энергетически выгодные конформации, возникающие при поворотах вокруг единичных связей, называются *поворотными изомерами*. Молекула будет переходить из выгодной конформации в другую со скоростью, которая определяется высотой потенциального барьера, отделяющего эти конформации. Так, при высоте потенциального барьера около $12,5$ кДж/моль время превращения одного поворотного изомера в другой составляет 10^{-10} секунды.

Белки и нуклеиновые кислоты представляют собой информационные макромолекулы, кодирование информации в которых осуществляется аминокислотным или нуклеотидным алфавитом. Макромолекулы полисахаридов состоят из одинаковых звеньев и поэтому не несут информации. Они выполняют либо опорную функцию, либо служат в качестве депо необходимых веществ.

Структура макромолекул имеет несколько уровней организации. Важная особенность структуры белков и нуклеиновых кислот заключается в стабилизации положения химических групп в пространстве с минимальной внутренней энергией. Это достигается за счет ковалентных, водородных связей и других связей. *Первичной структурой* называется последовательность мономеров, образующих полимерную цепь. В белках это последовательность аминокислот, в нуклеиновых кислотах – нуклеотидов. Первичная структура стабилизирована ковалентными связями, в то время как все остальные уровни организации – в основном слабыми связями (водородными, гидрофобными, электростатическими). Регулярное расположение в пространстве химических групп (пептидных в белках, пуриновых и пиримидиновых оснований в нуклеиновых кислотах) создает *вторичную структуру* биополимеров. Например, вторичная структура ДНК представляет собой двойную спираль, стабилизированную водородными связями между элементарными азотистыми основаниями образующих спираль цепей.

Как известно из химии, вращение в молекулах вокруг одинарных связей приводит к появлению поворотных изомеров, то есть молекул с различной конформацией. В белках вращение вокруг пептидной связи C–N затруднено, так как эта связь имеет на 30-40 % характер двойной связи вследствие резонанса. Поэтому белок можно рассматривать как цепь из связанных друг с другом плоских пептидных звеньев. Вращение этих звеньев возможно вокруг одинарных связей α углерода аминокислот. Угол поворота вокруг связи C_{α} –C обозначается ψ , а вокруг N– C_{α} – ϕ . Полинг и Корн установили два основных варианта вторичной структуры белковой цепи: α -спираль и β -форму. α -Спирали могут быть правозакрученными ($\phi=132^{\circ}$, $\psi=123^{\circ}$) и левозакрученными ($\phi=228^{\circ}$, $\psi=237^{\circ}$). β -Формы могут быть параллельными ($\phi=61^{\circ}$, $\psi=239^{\circ}$) и антипараллельными ($\phi=380^{\circ}$, $\psi=325^{\circ}$). Кроме того, в белках встречаются участки, не образующие регулярной структуры, так называемые *неупорядоченные структуры*, в которых одноименные углы ϕ и ψ неодинаковы. Например, в гемоглобине 75 % аминокислот образуют право-

закрученные α -спирали, а остальные участки являются неупорядоченными, они располагаются преимущественно в местах пространственных изгибов спирализованной цепи.

Возможность изгибов в цепи и наличие в молекулах белков различных взаимодействий между группами, далеко отстоящими друг от друга в полипептидной цепи, приводят к компактной укладке этой цепи. Расположение в пространстве элементов вторичной структуры и неупорядоченных звеньев полипептидной цепи называется *третичной структурой* белка. Различие между вторичной и третичной структурами условно, так как в действительности мы имеем дело с единственной пространственной структурой (конформацией) белка, состоящей из регулярных участков и неупорядоченных звеньев. Нативная молекула белка может состоять из нескольких полипептидных цепей, каждая из которых имеет определенную третичную структуру. Такие отдельные полипептидные цепи, не связанные друг с другом ковалентно, называются субъединицами. Структура, которая образуется при ассоциации субъединиц, называется *четвертичной структурой* белка. Число субъединиц в нативной молекуле белка постоянно. Этим четвертичная структура отличается от агрегатов молекул белка, образующихся при денатурации.

Изменение свойств окружающей среды: температуры, ионного состава, рН, концентрации малых молекул – может изменить баланс сил, определяющих данную конформацию белка, и вызвать переход белка в новую конформацию, стабильную в новых условиях. Такие перестройки в молекуле белка называют *конформационными переходами*.

3.3 Виды взаимодействий в макромолекулах

В биологически важных молекулах существуют несколько типов связей и энергии взаимодействий.

1 *Ионные связи* образуются между заряженными атомами. Энергия ионной связи определяется по формуле:

$$W_{\text{ион}} = - q_1 q_2 / 4\pi\epsilon_0\epsilon r,$$

где q_1 и q_2 – заряды взаимодействующих ионов;

$\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м – электрическая постоянная;

ϵ – относительная диэлектрическая проницаемость среды;

r – расстояние между ионами.

Ионные связи в макромолекулах обусловлены присутствием ионогенных групп: карбоксильных и аминогрупп в белках, фосфатных групп в нуклеиновых кислотах. В биомембранах ионогенными группами являются фосфаты, а также карбоксилы свободных жирных кислот. За счет ионных связей образуются комплексы различных ионов с макромолекулами. Например, многие белки связывают ионы кальция, а нуклеиновые кислоты еще и ионы магния.

Для многих явлений в организме (мышечное сокращение, свертывание крови) важно образование комплексов ионов с макромолекулами. Образование этих комплексов происходит за счет ион-ионных и ион-дипольных взаимодействий. Например, связывание ионов кальция с фосфолипидами мембраны обусловлено ион-ионными взаимодействиями, а связывание мембранных ионов кальция с лекарственным препаратом – ион-дипольным взаимодействием.

2 *Ион-дипольные взаимодействия* возникают между ионами и молекулами или атомными группами, обладающими дипольным моментом. Атомы, находящиеся на небольшом расстоянии друг от друга, взаимодействуют за счет ван-дер-ваальсовых связей, которые включают следующие виды взаимодействий:

1) *ориентационные (диполь-дипольные)* связи возникают между молекулами, обладающими дипольным моментом;

2) *индукционное взаимодействие* возникает тогда, когда молекула, имеющая постоянный дипольный момент, способна индуцировать его в соседней молекуле;

3) *дисперсионные взаимодействия* возникают между нейтральными или неполярными группами и имеют квантово-механическую природу. Например, взаимодействие углеводородных цепей друг с другом в липидной части биомембран.

Важную роль в формировании структуры макромолекул играют водородные связи.

3 *Водородные связи* образуются между группами, содержащими атом водорода, и атомами кислорода, азота, фтора, хлора за счет электростатических и ван-дер-ваальсовых взаимодействий. Эти связи обусловлены способностью самого малого атомного ядра протона проникать в электронные оболочки соединяемых им электроотрицательных атомов и их стягивать. Водородная связь является направленной и образуется только в том случае, когда все три атома, участвующие в её образовании, лежат на одной прямой. Водородные связи играют важнейшую роль в поддержании определенной вторичной структуры не только белков, но и нуклеиновых кислот. Одновременное образование большого числа водородных (слабых) связей в макромолекулах лежит в основе явления комплементарности, то есть строго структурного соответствия и специфичности связывания больших участков молекул.

4 *Гидрофобные взаимодействия* способствуют отталкиванию друг от друга неполярных незаряженных групп и молекул воды. Эти силы определяют формирование структуры биологических мембран и глобулярных белков.

3.4 Структура воды и гидрофобные взаимодействия

Большинство биополимеров функционирует в водной среде, и взаимодействие составляющих их мономеров с водой во многом определяет про-

странственную конфигурацию макромолекулы в целом. Причина столь важной роли воды в биологических процессах кроется в следующем.

В отличие от гидридов элементов VI группы (H_2S , H_2Se , H_2Te) молекула H_2O является диполем из-за своей асимметрии: линии, соединяющие центры атома кислорода с центрами атомов водорода, образуют угол $104,28^\circ$. Атом кислорода в молекуле воды расположен как бы в центре тетраэдра, в двух вершинах которого находятся атомы водорода. Две пары электронов кислорода, не участвующих в образовании ковалентных связей, находятся на вытянутых орбиталях, оси которых направлены к двум другим углам тетраэдра. Эти электронные пары несут локальный отрицательный заряд и обуславливают электростатическое притяжение между данной молекулой воды и атомами водорода соседних молекул. Благодаря этим взаимодействиям в жидкой воде формируются ассоциации молекул, называемые кластерами. Структура кластеров сходна со структурой льда. В кристаллах льда каждая молекула воды связана водородными связями с 4 соседями, при этом атомы кислорода соседних молекул также располагаются в вершинах тетраэдров. Такая кристаллическая решетка отличается рыхлостью: в кристаллах льда атомы расположены сравнительно далеко друг от друга, поэтому лед имеет довольно низкую плотность, более низкую, чем жидкая вода, в которой часть молекул располагается в полостях тетраэдрической кристаллической структуры. Вместе с тем даже после полного таяния льда в жидкой воде сохраняются льдоподобные структуры – кластеры. Между кластерами и неструктурированной частью воды постоянно существует обмен молекулами, так что в среднем каждый кластер живет всего $10^{-10} - 10^{-11}$ секунд. При 20°C доля несвязанных в кластеры молекул составляет 29,5 %. С повышением температуры средний размер кластеров уменьшается, и доля несвязанных молекул возрастает. *Именно с плавлением кластеров связана аномально высокая теплоёмкость воды.*

В воде хорошо растворяются те органические соединения, которые содержат полярные группы и способны вступать в диполь-дипольные взаимо-

действия с молекулами воды или образовывать с ними водородные связи. Таковы, например, группы $-\text{OH}$, $>\text{C}=\text{O}$, $-\text{NH}_2$. Напротив, неполярные молекулы углеводов плохо растворяются или совсем не растворяются в воде. Это объясняется тем, что при растворении молекулы углеводов «вталкиваются» в полости внутри тетраэдрических ячеек кластеров, вытесняя оттуда неструктурированную воду. Последняя образует новые кластеры, и упорядоченность системы увеличивается, а значит, энтропия уменьшается. Поэтому гидрофобные взаимодействия являются результатом свойств воды, а не каких-то особых сил, связывающих неполярные группы друг с другом. Таким образом, ассоциация неполярных молекул в воде за счет гидрофобных взаимодействий определяется выталкивающим действием воды на неполярные соединения, что обусловлено тенденцией молекул воды к достижению состояния максимальной неупорядоченности (максимальной энтропии).

3.5 Роль гидрофобных взаимодействий в формировании структуры белка

Аминокислотные остатки, входящие в состав полипептидной цепи, могут быть разделены на две группы: неполярные (гидрофобные) и полярные (гидрофильные). В формировании пространственной структуры белка определяющую роль играют гидрофобные взаимодействия. Эту идею впервые высказали советские ученые Бреслер С.Е. и Толмуд Д.Л. в 1944 году. Идея состояла в том, что гибкая макромолекула белка в воде сворачивается в глобулу. Так как неполярные остатки белка стремятся к минимальному контакту с водным окружением, они начинают сворачиваться в шарообразную каплю. Полярные же радикалы белка стремятся к максимальному контакту с водным окружением, поэтому они образуют гидрофильную оболочку вокруг гидрофобной капли. В результате образуется глобула, которая имеет гидрофобное ядро и гидрофильную поверхность.

В 1964 году Фишер установил, что:

1) если количество полярных остатков в белке равно количеству неполярных, то молекула белка имеет шаровидную форму (глобула);

2) если количество полярных остатков в белке больше, чем необходимо для того, чтобы покрыть гидрофобное ядро гидрофильным слоем, то глобула вытягивается в эллипсоид (фибрилла);

3) если количество полярных остатков в белке меньше, чем необходимо для того, чтобы покрыть гидрофобное ядро гидрофильным слоем, то гидрофобные взаимодействия ведут к агрегации белков и возникновению надмолекулярных структур.

Формирование гидрофобного ядра в глобулярных белках имеет принципиальное значение для их функционирования. Благодаря гидрофобным взаимодействиям белки при большой молекулярной массе обладают сравнительно компактной структурой, при этом компактно упакованная глобула находится в одной, наиболее устойчивой конформации.

3.6 Связывание лигандов с макромолекулами

В основе функционирования многих биополимеров лежит образование комплексов между малой молекулой (ионом, гормоном, метаболитом) - лигандом - и центрами связывания, лежащими на макромолекуле. Образование комплекса лиганд-макромолекула можно рассматривать как химическую реакцию, которая характеризуется константой образования комплекса, то есть константой связывания. В ходе исследований выяснилось, что константа связывания обратно пропорциональна концентрации свободного лиганда в условиях 50 % заполнения центров связывания. Из всех реакций связывания лиганда с макромолекулой наиболее хорошо изучено образование комплекса кислорода с гемосодержащими белками. На основе теоретических выкладок была разработана методика определения степени насыщения кислородом разных типов гемоглобинов человека и миоглобина. Для этого

строятся кривые насыщения кислородом. Для построения этих кривых пользуются не концентрацией кислорода, а его парциальным давлением, которое прямо пропорционально концентрации кислорода в растворе. Тогда величина парциального давления, при котором 50 % гемоглобина оксигенировано, будет являться мерой сродства гемоглобина к кислороду (P_{50}). Уменьшение значений P_{50} означает увеличение константы связывания, то есть увеличение способности гемоглобина связывать кислород. По результатам исследований оказалось, что нормальный гемоглобин (HbA) будет отдавать кислород гемоглобину плода (HbF) и миоглобину мышц (Mb), то есть мера сродства к кислороду у нормального гемоглобина ниже, чем у фетального гемоглобина и миоглобина.

3.7 Кооперативное связывание лигандов

В 1909 году Хилл предложил модель связывания кислорода с гемоглобином. Согласно модели Хилла, центры связывания кислорода на молекуле гемоглобина не являются независимыми. Присоединение первой молекулы кислорода к одному из центров увеличивает сродство к кислороду других центров, а связывание двух молекул кислорода еще более облегчает связывание третьей молекулы кислорода и т.д. Такое связывание, при котором константы связывания идентичных центров изменяются по мере заполнения центров, называется *кооперативным связыванием*.

Хилл рассмотрел модель с максимальной кооперативностью, то есть когда связывание первого лиганда увеличивает сродство остальных центров настолько, что они заполняются практически мгновенно. Это предположение эквивалентно тому, что в любой равновесной смеси лиганда и макромолекул присутствуют в значительных концентрациях либо только макромолекулы с незанятыми центрами связывания, либо комплексы лиганда с макромолекулой, где все центры заполнены. Константа связывания в этом случае определяется выражением:

$$K = [ML_n]/c^n[M], \quad (3.1)$$

где $[ML_n]$, c^n , $[M]$ – соответствующие концентрации комплексов, свободного лиганда и свободных центров связывания.

В этой условной реакции константа связывания представляет собой произведение соответствующих констант связывания $K = (K_1 \dots K_n)$. Поэтому, для удобства расчета, Хилл преобразовал выражение (3.1) в выражение:

$$\lg [Y/(1-Y)] = \lg K + n \lg c, \quad (3.2)$$

где Y – степень насыщения.

Это уравнение называется *уравнением Хилла*, а прямая, являющаяся графическим представлением зависимости $\lg[Y/(1-Y)]$ от $\lg c$, называется *графиком Хилла*; её наклон равен n . Хотя уравнение (3.2) было выведено для случая полной кооперативности связывания лиганда всеми n центрами, тем не менее, графиками Хилла часто пользуются для анализа процессов, кооперативность которых не является полной. В этих случаях кооперативность характеризуют коэффициентом Хилла (h), который численно равен максимальному тангенсу угла наклона графиков Хилла. Так, связывание кислорода с нормальным гемоглобином, имеющим 4 гема, характеризуется $h=2,9$, а с эритрокруорином (аналогом гемоглобина) кольчатого червя пескожила, имеющим 96 гемов, расположенных по 8 в 12 субъединицах, характеризуется $h=6$. По коэффициенту Хилла определяют характер и степень кооперативности. Если $h=1$, то кооперативность отсутствует (например, миоглобин). При $h<1$ кооперативность отрицательная, то есть происходит уменьшение сродства при последовательном связывании лигандов. При $h>1$ имеет место положительная кооперативность, то есть усиление сродства по мере связывания лиганда. Кооперативность связывания лигандов является лишь одним из примеров кооперативных процессов в биологии, к числу которых отно-

сятся: плавление ДНК, обратимая денатурация белка, фазовые переходы в биомембранах.

3.8 Ферментный катализ

Одной из основных функций белка является ферментативная. Белки-ферменты способны ускорять биохимические реакции в $10^8 - 10^{10}$ раз по сравнению с тем, если бы эти реакции происходили бы без участия ферментов. Ферменты никогда не сдвигают химическое равновесие. Роль ферментов сводится к уменьшению энергии активации реакции, а, следовательно, к увеличению константы скорости. Ферменты обладают высокой специфичностью и катализируют только определенные реакции или реакции с участием узкого класса соединений. Первой моделью, объясняющей специфичность фермента, явилась модель Фишера, согласно которой субстрат стерически соответствует активному центру фермента. Эта модель получила название *ключ-замок*. Согласно более поздней модели Кошланда – модели *индуцированного соответствия*, - присоединение определенного субстрата вызывает конформационные перестройки в ферменте, в результате чего его каталитические группы ориентируются в пространстве таким образом, что оказываются способными осуществить превращение субстрата в продукт.

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата определяется *уравнением Михаэлиса-Ментен*:

$$v = \frac{v_{\max} S}{S + k_m},$$

где v_{\max} - максимальная скорость реакции;

k_m - константа Михаэлиса, равная концентрации субстрата, при которой скорость реакции составляет половину от максимальной;

S - концентрация субстрата.

Некоторые вещества, связываясь с ферментом, уменьшают скорость ферментативной реакции (*ингибиторы*) или увеличивают (*активаторы*). В качестве ингибиторов и активаторов могут выступать естественные физиологические вещества, регулирующие ферментативную активность, и лекарственные препараты. Различают конкурентные и неконкурентные ингибиторы. *Конкурентные ингибиторы* связываются с активным центром фермента, образуя комплекс фермент-ингибитор, но в продукт не превращаются. При этом максимальная скорость ферментативной реакции не изменяется. *Неконкурентный ингибитор* связывается с фермент-субстратным комплексом, образуя продукт - неактивный комплекс – фермент-субстрат-ингибитор. При этом максимальная скорость ферментативной реакции уменьшается. Но существует ряд ферментов, кинетика которых не подчиняется уравнению Михаэлиса-Ментен. Эти ферменты состоят из нескольких субъединиц, имеют несколько центров связывания субстрата и проявляют свойства кооперативности.

4 Биофизика мембран

Биологическими мембранами называют функциональные структуры клеток толщиной в несколько молекулярных слоев, ограничивающие цитоплазму и большинство внутриклеточных структур, а также образующие единую внутриклеточную систему канальцев, складок и замкнутых полостей. Толщина биологических мембран редко превышает 10 нм, однако вследствие сравнительно плотной упаковки в них основных молекулярных компонентов (белки и липиды), а также большой общей площади клеточных мембран они составляют обычно более половины массы сухих клеток.

Биологические мембраны построены в основном из белков, липидов и углеводов. Белки и липиды составляют основную часть сухой массы мембран. Доля углеводов обычно не превышает 10-15 %, причем они связаны либо с молекулами белка (гликопротеины), либо с молекулами липидов (гликолипиды). В мембранах различного происхождения содержание липидов колеблется от 25 % до 75 % по массе по отношению к белку.

Липиды, входящие в состав биологических мембран, относятся главным образом к трем основным классам: глицерофосфатидам (фосфолипиды), сфинго- и гликолипидам, а также стероидам.

4.1 Структура и функции биологических мембран

Первая модель биологической мембраны была предложена в 1902 году. Было замечено, что через мембраны лучше всего проникают вещества, хорошо растворимые в липидах, следовательно, биологические мембраны состоят из тонкого слоя фосфолипидов.

В 1925 году Гorter и Грендел показали, что площадь монослоя липидов, экстрагированных из мембран эритроцитов, в 2 раза больше суммарной площади эритроцитов. Была высказана идея, что липиды в мембране располагаются в виде молекулярного бислоя.

В 1935 г. Ф. Даниэлли и Г. Девсон выдвинули первую гипотезу о строении биологических мембран, согласно которой мембрана состоит из двойного липидного слоя, покрытого с двух сторон слоями глобулярных белков («бутербродная» модель). В том же году Коул и Кертис определили электрические параметры биологических мембран: высокое электрическое сопротивление ($\approx 10^7$ Ом·м²) и большая электрическая емкость ($\approx 0,5 \cdot 10^{-2}$ Ф/м²).

В целом, биологическую мембрану можно рассматривать как электрический конденсатор, в котором пластинами являются электролиты внеклеточного раствора и цитоплазмы с погруженными в них головками липидных молекул. Проводники разделены диэлектрическим слоем, образованным неполярной частью липидных молекул - двойным слоем их хвостов. Липиды - диэлектрики с диэлектрической проницаемостью $\epsilon \approx 2$.

Емкость плоского конденсатора

$$C = \epsilon \epsilon_0 S/d,$$

где ϵ_0 – электрическая постоянная = $8,85 \cdot 10^{12}$ Ф/м;

d – расстояние между пластинами конденсатора;

S – площадь пластины.

Удельная емкость (на единицу площади) $C_{y\partial} = \epsilon \epsilon_0/d$. Отсюда можно найти расстояние между пластинами конденсатора, соответствующее толщине липидной части мембраны $d = \epsilon \epsilon_0/C_{y\partial} = 3,5$ нм.

В 1964 г. Дж. Робертсон предложил унитарную схему асимметричного строения мембраны. В соответствии с этой схемой белки могут разворачиваться на поверхности двойного липидного слоя под действием сил электростатического взаимодействия с заряженными головками фосфолипидов мембран; на наружной поверхности мембраны располагаются еще и молекулы гликопротеинов. Однако под влиянием новых фактов, и в первую очередь обнаружения зернистой структуры мембран, которая просматривалась на

снимках, полученных при большом увеличении, первоначальные представления о трехслойности мембран были пересмотрены.

В настоящее время считают, что белки не выстилают поверхность липидного слоя мембран, а «плавают» на поверхности в виде отдельных глобулярных молекул или частиц, в большей, или меньшей степени погруженных в мембрану. Эта жидкомозаичная модель, предложенная Дж. Николсоном и С. Сингером (1972), позволяет удовлетворительно объяснить целый ряд фактов, в частности зависимость многих физиологических функций мембран и активности отдельных мембранных ферментов от фазового состояния липидов в мембране, ее текучести (вязкости). Более поздняя белково-кристаллическая модель отличается от жидкомозаичной модели фактически лишь постулированием существования в мембране жесткой белковой структуры, возникающей в результате дальнедействующих белок-белковых связей. На сегодняшний день наибольшее распространение получили различные варианты жидкомозаичной модели.

Согласно современным представлениям, все клеточные и внутриклеточные мембраны устроены сходным образом: основу мембраны составляет двойной молекулярный слой липидов (липидный бислой) на котором и в толще которого находятся белки.

Белки мембран принято делить на интегральные и периферические. *Интегральные белки* имеют обширные *гидрофобные участки* на поверхности и нерастворимы в воде. С липидами мембран они связаны *гидрофобными взаимодействиями* и частично погружены в толщу липидного бислоя, а зачастую и пронизывают бислой, оставляя на поверхности сравнительно небольшие гидрофильные участки. Отделить эти белки от мембраны удастся только с помощью *детергентов*, типа додецилсульфата или солей желчных кислот, которые разрушают липидный слой и переводят белок в растворимую форму (*солюбилизируют* его) образуя с ним ассоциаты. Все дальнейшие операции по очистке интегральных белков осуществляются также в присутствии детергентов. *Периферические белки* связаны с поверхностью липидно-

го бислоя электростатическими силами и могут быть отмыты от мембраны солевыми растворами.

Молекулы фосфолипидов, согласно данным рентгеноструктурного анализа, имеют форму сплюснутого с боков цилиндра, а по длине как бы делятся на две неравные части: небольшую "голову", состоящую из полярных групп, и длинный "хвост", образованный углеводородными цепями жирных кислот, входящих в состав фосфолипида.

Можно выделить три основные функции биологических мембран:

1) *барьерная* функция обеспечивает селективный, регулируемый, пассивный и активный обмен веществ клетки с окружающей средой (селективный - значит избирательный: одни вещества переносятся через биологические мембраны, другие нет; регулируемый - проницаемость мембраны для определенных веществ меняется в зависимости от функционального состояния клетки; активный - перенос от мест, где концентрация вещества мала, к местам с большей концентрацией);

2) *матричная* функция обеспечивает взаимное расположение и ориентацию мембранных белков, обеспечивает их оптимальное взаимодействие (например, взаимодействие мембранных ферментов);

3) *механическая* функция обеспечивает прочность и автономность клеток и внутриклеточных структур.

Кроме того, биологические мембраны выполняют функции:

1) энергетическую - синтез АТФ на внутренних мембранах митохондрий и фотосинтез углеводов в мембранах хлоропластов;

2) генерацию и проведение биопотенциалов;

3) рецепторную (механическая, акустическая, обонятельная, зрительная, химическая, терморцепция - мембранные процессы) и многие другие функции.

Огромная роль мембран в жизненных процессах связана с их относительно большой совокупной площадью. Так, общая площадь всех биологи-

ческих мембран в организме человека достигает десятков тысяч квадратных метров.

4.2 Динамика мембран

Режим функционирования мембраны в значительной степени зависит от микровязкости липидного бислоя и подвижности фосфолипидных молекул в мембране, фазового состояния мембранных липидов. Отклонения биологических характеристик липидного бислоя от нормы связано с разного рода патологиями. Важную роль в физиологии клетки играют фазовые переходы в биологических мембранах.

Липидная фаза биологических мембран при физиологических условиях (температуре, давлении, химическом составе окружающей среды) находится в жидком агрегатном состоянии, что было подтверждено методами флуоресцентного анализа, электронного парамагнитного резонанса и ядерного магнитного резонанса. Эти же методы показали, что подвижность фосфолипидных молекул в мембране сравнительно велика, а вязкость мала.

Изменение микровязкости липидного окружения мембранных белков-ферментов резко сказывается на их функционировании. Некоторые экспериментальные данные свидетельствуют о том, что значительное снижение вязкости липидной фазы мембраны обуславливает канцерогенез. При старении вязкость увеличивается.

Высокая подвижность липидных молекул обуславливает **латеральную** (боковую) диффузию - хаотическое перемещение молекул липидов и белков в плоскости мембраны. При латеральной диффузии расположенные рядом молекулы липидов скачком меняются местами и таким образом молекула перемещается вдоль поверхности мембраны. Среднее квадратичное перемещение молекул при диффузии за время t можно оценить по формуле Эйнштейна: $S_{кв} = 2\sqrt{Dt}$, где D – коэффициент латеральной диффузии.

Перемещение молекул по поверхности мембраны клетки за время t определено экспериментальным методом флуоресцентных меток. Оказалось,

что среднее квадратичное перемещение за секунду фосфолипидной молекулы по поверхности мембраны эритроцита составило около 5 мкм, что сравнимо с размерами клеток, т.е. за секунду молекула может обежать всю поверхность небольшой клетки. Для белковых молекул $S_{кв}$ составляет около 0,2 мкм/с. Рассчитанные по формуле Эйнштейна коэффициенты латеральной диффузии для липидов $D_{лип} = 6 \cdot 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$, и $D_{б} = 10^{-14} \text{ м}^2/\text{с}$ для белков.

Частота перескоков молекулы вследствие латеральной диффузии может быть найдена по формуле

$$v = 2\sqrt{3} \frac{D}{f},$$

где f – площадь, занимаемая одной молекулой в мембране.

Для молекул фосфолипидов $f \approx 7 \cdot 10^{-19} \text{ м}^2$, $v \approx 3 \cdot 10^7 \text{ с}^{-1}$. Каждая молекула, таким образом, в среднем претерпевает десятки миллионов перестановок в плоскости мембраны за секунду с характерным временем одного перескока $\tau = 10^{-7} - 10^{-8} \text{ с}$.

Флип-флоп – диффузия молекул мембранных фосфолипидов поперек мембраны. Методом спиновых меток на модельных липидных мембранах было установлено, что перескоки молекул с одной поверхности бислоя на другую (флип-флоп) совершаются значительно медленнее, чем перескоки при латеральной диффузии. Среднее время, через которое фосфолипидная молекула совершает флип-флоп переход, около одного часа, что в десятки миллиардов раз больше среднего времени, характерного для перескока молекулы из одного места в соседнее в плоскости мембраны.

Сочетание быстрой диффузии молекул вдоль мембраны и очень медленной диффузии поперек мембраны имеет большое значение для функционирования мембран, а именно для матричной функции мембраны. Благодаря затрудненному переходу поперек мембраны поддерживается упорядоченность в молекулярной структуре мембраны, ее анизотропия, асимметрия (относительно плоскости мембраны) расположения липидных и белковых молекул, определенная ориентация белков-ферментов поперек мембраны. Это

имеет большое значение, например, для направленного переноса веществ через мембрану.

4.3 Физическое состояние и фазовые переходы липидов в мембранах

Липидные бислойные мембраны при физиологических условиях - жидкие, время оседлой жизни фосфолипидных молекул в мембране мало - 10^{-7} - 10^{-8} с. Вместе с тем, молекулы в мембране размещены не беспорядочно - в их расположении наблюдается дальний порядок. Фосфолипидные молекулы находятся в двойном слое, а их гидрофобные хвосты приблизительно параллельны друг другу. Есть порядок и в ориентации полярных гидрофильных голов.

Физическое состояние, при котором есть дальний порядок во взаимной ориентации и расположении молекул, но агрегатное состояние жидкое, называется жидкокристаллическим состоянием. Жидкие кристаллы могут образовываться не во всех веществах, а в веществах из длинных молекул (поперечные размеры которых меньше продольных). Известны следующие виды жидкокристаллических структур:

- 1) нематическая (нитевидная) – длинные молекулы ориентированы параллельно друг другу;
- 2) смектическая (мылообразная) – молекулы параллельны друг другу и располагаются слоями;
- 3) холестерическая – молекулы располагаются параллельно друг другу в одной плоскости, но в разных плоскостях ориентации молекул разные.

Бислойная липидная фаза биологических мембран соответствует смектическому жидкокристаллическому состоянию.

Жидкокристаллические структуры очень чувствительны к изменению температуры, давления, химического состава, электрическому полю. Это определяет изменение структуры липидных бислойных мембран при различ-

ных изменениях внешних условий или химического состава. При определенных температурах происходит фазовый переход первого рода. В частности, при понижении температуры в фосфолипидной мембране происходит переход из жидкокристаллического в гель-состояние, которое условно иногда называют твердокристаллическим. В гель-состоянии молекулы расположены еще более упорядочено. Все гидрофобные хвосты фосфолипидных молекул в гель-фазе полностью вытянуты строго параллельно друг другу. Поэтому толщина мембраны в гель-фазе больше, чем в жидком кристалле.

Однако при переходе вещества из твердого состояния в жидкокристаллическое, несколько увеличивается объем, так как возрастает площадь мембраны, приходящаяся на одну молекулу. Поскольку в твердокристаллическом состоянии больше порядок, чем в жидком кристалле, ему соответствует меньшая энтропия.

Для нормального функционирования мембрана должна быть в жидкокристаллическом состоянии. Поэтому в живых системах при продолжительном понижении температуры окружающей среды наблюдается адаптационное изменение химического состава мембран, обеспечивающее понижение температуры фазового перехода. Температура фазового перехода понижается при увеличении числа ненасыщенных связей в жирнокислотных хвостах. В хвосте молекулы может быть до четырех ненасыщенных связей. В зависимости от химического состава липидных мембран температура фазового перехода гель – жидкий кристалл меняется от минус 20 °С (для мембран из ненасыщенных липидов) до +60 °С (для насыщенных липидов).

4.4 Модельные липидные мембраны

Липосомы (фосфолипидные везикулы) получают обычно при набухании сухих фосфолипидов в воде или при впрыскивании раствора липидов в воду. При этом происходит самосборка бимолекулярной липидной мембраны. При этом все неполярные гидрофобные хвосты находятся внутри мембраны, и ни один из них не соприкасается с полярными молекулами воды.

Чаще получаются несферические липосомы, состоящие из нескольких бимолекулярных слоёв – многослойные липосомы. Отдельные бимолекулярные слои многослойной липосомы отделены водной средой. Однослойные липосомы можно получить из суспензии многослойных липосом, если обработать их ультразвуком. Липосомы представляют собой в некотором роде прообраз клетки. Они служат моделью для исследований различных свойств клеточных мембран.

Липосомы нашли непосредственное применение в медицине. Например, можно заключить внутрь липосом лекарственный препарат и использовать как фосфолипидную микрокапсулу для доставки лекарства в определенные органы и ткани. Липосомы не токсичны (при правильном подборе липидов), полностью усваиваются организмом, способны преодолевать некоторые биологические барьеры. Так, инсулин, заключенный в липосому, защищен от действия пищеварительных ферментов. В настоящее время выясняется возможность вводить этот препарат в липосомах перорально, что может избавить больных диабетом от необходимости систематических уколов. Проводятся работы по разработке методов липосомальной терапии опухолей, ферментативной недостаточности, атеросклероза. Изучается возможность прицельной доставки лекарственного препарата, заключенного в липосомах, к больному органу или даже к больному участку (в частности, к пораженному участку сердца).

Плоские бислойные липидные мембраны – другой тип модельных мембран. Такие мембраны получают на маленьких отверстиях диаметром около 1 мм в пластине из фторопласта, погруженной в водную среду. На отверстие наносят каплю раствора липидов (в спирте, хлороформе, гептане). Растворитель диффундирует из раствора в воду, и на отверстии остается пленка липида. Эта пленка спонтанно утончается до тех пор, пока не образуется бимолекулярный слой толщиной около 6 нм. Лишний липид собирается в виде ободка у краев отверстия.

Плоские липидные мембраны, наряду с липосомами, широко используются в качестве моделей для изучения электрических свойств мембраны, их проницаемости и других научных исследований. С помощью модельных мембран изучают ряд функций биологических мембран, и моделируют биологический транспорт, вводя в мембрану молекулы-переносчики.

5 Транспорт веществ через биологические мембраны

Большинство процессов жизнедеятельности, таких, как всасывание, выделение, проведение нервного импульса, мышечное сокращение, синтез АТФ, поддержание постоянства ионного состава и содержания воды связано с переносом веществ через мембраны. Этот процесс в биологических системах получил название транспорта.

Если перенос вещества происходит с уменьшением электрохимического потенциала, то есть не требует затрат энергии, то такой транспорт называется *пассивным*. Его разновидностями являются *диффузия* (перемещение веществ в сторону меньшей концентрации) и *фильтрация* (просачивание веществ поры в сторону меньших значений давления). С помощью диффузии в клетку проникают растворенные молекулы кислорода и углекислого газа, а также яды и лекарственные препараты. Транспорт веществ через липидный бислой с помощью простой диффузии совершается с малой скоростью, особенно в случае заряженных частиц, и почти не контролируется. Поэтому в процессе эволюции для некоторых веществ появились *специфические мембранные каналы* и мембранные *переносчики*, которые способствуют повышению скорости переноса и, кроме того, осуществляют селективный транспорт. Пассивный транспорт веществ с помощью переносчиков называется *облегченной диффузией*.

Иногда требуется перенести вещество из области с меньшим значением электрохимического потенциала в область с большим его значением. Этот процесс не может протекать самопроизвольно и требует затрат энергии. Такой вид транспорта называется *активным*. Например, в сторону увеличения электрохимического потенциала осуществляется трансмембранный перенос натрия. Если энергия, необходимая для осуществления активного транспорта, берется за счет гидролиза АТФ или окислительно-восстановительных реакций, то такой транспорт называется *первично-*

активным; если за счет градиента концентраций других ионов, то - *вторично-активным* или *сопряженным*.

Через мембрану могут переноситься не только отдельные молекулы, но и твердые тела (*фагоцитоз*), растворы (*пиноцитоз*). Если вещество транспортируется внутрь клетки, то такой вид транспорта называется *эндоцитозом*, если наружу, то - *экзоцитозом*. В первом случае на наружной стороне мембраны образуется впячивание, которое постепенно превращается в пузырек. Пузырек отрывается от мембраны внутри клетки. Такой пузырек содержит в себе транспортируемое вещество, окруженное билипидной оболочкой (везикулой). В дальнейшем везикула сливается с какой-нибудь клеточной органеллой и выпускает в неё своё содержимое. В случае экзоцитоза процесс происходит в обратной последовательности: везикула подходит к мембране с внутренней стороны клетки, сливается с ней и выбрасывает своё содержимое в межклеточное пространство.

5.1 Пассивный транспорт нейтральных частиц

При наличии градиента концентраций вещества совершается диффузия или пассивный транспорт указанного вещества из области с большей концентрацией в область с меньшей концентрацией. Это явление происходит самопроизвольно (без затрат энергии) до тех пор, пока концентрации не выровняются, и суммарный поток вещества не обратится в ноль (в случае живых клеток такое выравнивание может и не наступить, если вещества непрерывно синтезируются или, наоборот, затрачиваются в ходе химической реакции).

Различают несколько типов пассивного переноса веществ через мембраны: простая диффузия нейтральных и заряженных частиц, облегченная диффузия с подвижным и неподвижным переносчиком, фильтрация и осмос.

Пассивный перенос вещества вдоль оси x описывается уравнением Фика:

$$\Phi = -D \frac{dc}{dx}, \quad (5.1)$$

где Φ – поток вещества;

D – коэффициент диффузии;

dc/dx – градиент концентрации c в направлении x .

Знак «-» показывает, что суммарная плотность потока вещества при диффузии направлена в сторону уменьшения плотности (в сторону, противоположную градиенту плотности). Для расчетного описания переноса веществ через биологическую мембрану пользуются законом Фика для пассивного транспорта веществ через мембрану:

$$\Phi = -D \frac{K(c_{\text{вн}} - c_{\text{вв}})}{l} = -P(c_{\text{вн}} - c_{\text{вв}}), \quad (5.2)$$

где K – коэффициент распределения вещества между мембраной и окружающей водной фазой;

l – толщина мембраны;

$c_{\text{вв}}$ – концентрация частиц внутри клетки;

$c_{\text{вн}}$ – концентрация частиц снаружи клетки;

P – коэффициент проницаемости.

Проницаемость мембраны для нейтральных частиц существенно зависит от их способности растворяться в билипидном слое мембраны. Проницаемость мембраны для различных веществ определяют по растворимости в оливковом масле, которую можно рассматривать как модель мембранных липидов. Таким образом, мембрана хорошо проницаема для липидорастворимых веществ (спирты, эфиры), не имеющих биологического значения. Но такие гидрофильные вещества как сахара, аминокислоты не способны проникать через биологическую мембрану посредством свободной диффузии. Для этого требуются специальные системы транспорта (смотри ниже). Проницаемость мембраны зависит также от размера молекул. Мелкие молекулы

могут проникать через мембрану путём простой диффузии. Например, вода не растворима в липидах и органических растворителях. Но она проникает через плазматическую мембрану благодаря небольшому размеру молекул. Проницаемость мембраны для воды очень высокая. Предполагают, что она проникает в мембрану через временные структурные дефекты, формирующихся при тепловых колебаниях хвостиков из жирных кислот. Эти дефекты (кинки) позволяют перемещаться через мембрану не только молекулам воды, но также другим небольшим гидрофильным молекулам (кислород, углекислый газ).

5.2 Пассивный транспорт ионов

Липидный бислой мембраны непроницаем для ионов. Они могут проникнуть через плазматическую мембрану только посредством специальных структур - ионных каналов, которые образованы интегральными белками.

Движущей силой диффузии является не только разность концентрации ионов внутри и вне клетки, но также разность электрических потенциалов, создаваемых этими ионами по обе стороны мембраны. Следовательно, диффузионный поток ионов определяется градиентом электрохимического потенциала (электрохимический градиент). Зависимость потока ионов Φ от электрохимического градиента определяется уравнением Теорелла:

$$\Phi = -UC \frac{d\mu}{dx}, \quad (5.3)$$

где μ – электрохимический потенциал, который зависит от природы вещества и природы растворителя;

U - подвижность ионов;

C - концентрация ионов;

$d\mu/dx$ - электрохимический градиент.

Если во всей рассматриваемой области диффузии отсутствуют химические превращения вещества и растворитель одинаков, то в этом случае уравнение Теорелла сводится к электродиффузному уравнению Нернста-Планка:

$$\Phi = -URT \frac{dC}{dx} - UCFz \frac{d\varphi}{dx}. \quad (5.4)$$

Это уравнение описывает пассивный перенос частиц в условиях существования градиентов концентрации вещества и электрического потенциала в растворе или в однородной незаряженной мембране.

Уравнение Нернста. В живом организме по обе стороны любой биологической мембраны находятся ионные растворы, причем концентрации одного и того же иона по обе стороны часто отличаются. Одной из причин установления и поддержания этих градиентов концентраций является различная проницаемость мембраны для тех или иных ионов. В этом случае градиент концентрации одного вещества может поддерживаться за счет наличия градиента концентрации другого вещества и/или разности потенциалов по обе стороны мембраны (так называемой трансмембранной разности потенциалов). Условием установления равновесия между двумя растворами, разделенными полупроницаемой мембраной, с различными концентрациями одинаковых ионов является равенство электрохимических потенциалов по одну и другую сторону мембраны. Значение разности электрических потенциалов, которая устанавливается на мембране при наличии градиента концентраций, рассчитывается с помощью уравнения Нернста:

$$\Delta\varphi = \varphi_i - \varphi_0 = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_0}{c_i}. \quad (5.5)$$

Равновесие Доннана. В клетке кроме малых ионов находятся еще и заряженные макромолекулы (белки, нуклеиновые кислоты). Как правило, эти макромолекулы заряжены отрицательно. Мембрана проницаема для малых ионов и непроницаема для макромолекул. Для каждого из растворов, находящихся по обе стороны мембраны, необходимо выполнение условия электронейтральности, то есть сумма положительных и отрицательных зарядов всех ионов должна равняться нулю. Для компенсации внутри клетки отрицательных зарядов макромолекул часть отрицательных малых ионов выходит из клетки, а часть положительных зарядов проходит в клетку из межклеточной среды. То есть на мембране возникает так называемая доннановская разность потенциалов, которая, в случае одинаковой подвижности ионов $P^+ = P^-$, составляет

$$\varphi_i - \varphi_0 = -\frac{RT}{zF} \cdot \frac{\delta}{2C}, \quad (5.6)$$

где δ – концентрация макромолекул в цитоплазме;

C - концентрация малых ионов во внеклеточной среде.

5.3 Облегченная диффузия

Облегченная диффузия происходит при участии молекул переносчиков. Переносчики, осуществляющие пассивный транспорт, переносят вещества из области с большей концентрацией в область с меньшей концентрацией и не требуют затрат энергии.

Известно, например, что антибиотик валиномицин - переносчик ионов калия. В липидной фазе молекула валиномицина имеет форму манжетки, усланной внутри полярными группами, а снаружи неполярными гидрофобными остатками молекул валина.

Особенности химического строения валиномицина позволяют образовывать комплекс с ионами калия, попадающими внутрь молекулы-манжетки, и в то же время валиномицин растворим в липидной фазе мембраны, так как снаружи его молекула неполярна. Ионы калия удерживаются внутри моле-

кулы за счет сил ион-дипольного взаимодействия. Молекулы валиномицина, оказавшиеся у поверхности мембраны, могут захватывать из окружающего раствора ионы калия. Диффундируя в мембране, молекулы переносят калий через мембрану и отдают ионы в раствор по другую сторону мембраны. Таким образом и происходит челночный перенос ионов калия через мембрану.

Отличия облегченной диффузии от простой:

1) перенос ионов с участием переносчика происходит значительно быстрее по сравнению со свободной диффузией;

2) облегченная диффузия обладает свойством насыщения - при увеличении концентрации с одной стороны мембраны плотность потока вещества возрастает лишь до некоторого предела, когда все молекулы переносчика уже заняты;

3) при облегченной диффузии наблюдается конкуренция переносимых веществ в тех случаях, когда одним переносчиком переносятся разные вещества; при этом одни вещества переносятся лучше, чем другие, и добавление одних веществ затрудняет транспорт других;

4) есть вещества, блокирующие облегченную диффузию, они образуют прочный комплекс с молекулами переносчика, препятствуя дальнейшему переносу.

Рассмотренный пример с белком валиномицином относится к облегченной диффузии с подвижным переносчиком. Другой ее разновидностью является транспорт с помощью неподвижных молекул переносчиков, фиксированных определенным образом поперек мембраны. При этом молекула переносимого вещества передается от одной молекулы переносчика к другой по типу эстафеты.

5.4 Осмос и фильтрация

Осмос - преимущественное движение молекул воды через полупроницаемые мембраны (непроницаемые для растворенного вещества и проницае-

мые для воды) из мест с меньшей концентрацией растворенного вещества в места с большей концентрацией. Осмос, по сути, диффузия воды из мест с ее большей концентрацией в места с меньшей концентрацией. Осмос играет большую роль во многих биологических явлениях. Явление осмоса обуславливает гемолиз эритроцитов в гипотонических растворах и тургор в растениях.

Фильтрацией называется движение воды через поры в мембране под действием градиента давления.

Скорость переноса воды при фильтрации подчиняется закону Пуазейля:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{P_1 - P_2}{W}, \quad (5.7)$$

где $\frac{dV}{dt}$ – скорость переноса объема воды;

w – гидравлическое сопротивление:

$$w = \frac{8\eta l}{\pi r^4}, \quad (5.8)$$

где l – длина поры;

r – ее радиус;

η – коэффициент вязкости воды.

Примером фильтрации в организме является перенос воды через стенки кровеносных сосудов, выдавливание плазмы крови в почечные канальцы. При некоторых патологиях фильтрация усиливается, что приводит к отекам.

5.5 Ионные каналы

Механизм обычной электродиффузии в живой клетке обеспечивает проницаемость мембран для кислорода и углекислого газа. Этот процесс

происходит слишком медленно и плохо контролируется, поэтому клетка не может его использовать для переноса питательных веществ и необходимых для жизнедеятельности ионов. Так, из каждых 10⁶ ионов, находящихся в водном растворе, только один находится в липидной фазе мембраны. Скорость переноса ионов значительно возрастает, если в мембране существуют ионные каналы. Наиболее распространены каналы для ионов калия, натрия, кальция. Ионные мембранные каналы образованы интегральными белками. Такой канал может быть либо открыт, либо закрыт для транспорта ионов. Эти два состояния реализуются изменением конформации каналобразующих белков, что может быть вызвано изменением условий в клетке и во внеклеточной среде, например, изменением мембранного потенциала.

Так как обычно с помощью каналов транспортируются гидрофильные вещества, то во внутренней полости их имеется большое число гидрофильных химических групп. Каждый канал неоднороден по строению: вдоль его внутренней полости располагаются различные химические группы, сродство ионов к которым неодинаково. Канал может иметь один или несколько ионных центров связывания. Эти центры представляют собой заряженные группы. Когда ион попадает в канал, он связывается с этими группами и таким образом попадает в потенциальную яму. Для того чтобы попасть в другую потенциальную яму, иону требуется преодолеть некоторый потенциальный барьер. Таких барьеров вдоль длины канала может быть несколько, причем высота их, обычно, неодинакова и может изменяться в зависимости от наличия или отсутствия ионов в канале, или изменения трансмембранной разности потенциалов. Так как в канале находятся заряженные группы, то изменение мембранного потенциала является нелинейным. Кроме этого, наличие заряженных групп может привести к непостоянству значений коэффициента распределения по длине канала.

Многие мембранные каналы настолько узки, что ионы не могут в них двигаться в различных направлениях независимо друг от друга: если в какой-либо потенциальной яме уже есть ион, то другой не может в неё попасть.

Это относится, например, к калиевым каналам. Встречные потоки ионов натрия через натриевые каналы можно считать независимыми, но если через эти каналы движутся ионы калия, то принцип независимости уже не выполняется. Для многих каналов, в зависимости от их строения, при высоких концентрациях ионов в окружающей среде наблюдается:

а) эффект насыщения: при увеличении концентрации ионов скорость их переноса повышается, но только до определенного уровня, выше которого скорость не изменяется;

б) блокировка: при концентрациях ионов выше некоторого значения скорость переноса начинает снижаться.

При переходе иона из окружающей среды в канал свободная энергия уменьшается. При этом величина потенциального барьера ниже, чем при переходе иона непосредственно через липидный бислой мембраны.

Основные свойства ионных каналов:

- 1) селективность;
- 2) независимость работы отдельных каналов;
- 3) дискретный характер проводимости;
- 4) зависимость параметров каналов от мембранного потенциала.

Рассмотрим подробнее эти свойства:

1 Селективность – способность ионных каналов избирательно пропускать ионы какого-либо одного типа. Ионные каналы обладают абсолютной селективностью по отношению к катионам или анионам (катион-селективные каналы, анион-селективные каналы). В то же время через катион-селективные каналы способны проходить различные катионы различных химических элементов. Но проводимость мембраны для неосновного иона будет существенно ниже. Способность ионного канала пропускать различные ионы называется относительной селективностью и характеризуется рядом селективности – соотношением проводимостей канала для разных ионов, взятых при одной концентрации.

2 Независимость работы отдельных каналов. Прохождение тока через отдельный ионный канал не зависит от того, идет ли ток через другие каналы. Влияние каналов друг на друга происходит опосредованно: изменение проницаемости каких-либо каналов меняет мембранный потенциал, а уже он влияет на проводимость прочих ионных каналов.

3 Дискретный характер проводимости ионных каналов. Ионные каналы представляют собой субъединичный комплекс белков, пронизывающий мембрану. В центре его существует трубка, сквозь которую могут проходить ионы: на 1 мкм^2 аксона кальмара находится около 500 натриевых каналов. Проводимость ионного канала дискретна, и он может находиться в двух состояниях: открытом или закрытом. Переходы между состояниями происходят в случайные моменты времени и подчиняются статистическим закономерностям. Нельзя сказать, что данный ионный канал откроется именно в этот момент времени. Можно лишь сделать утверждение о вероятности открывания канала в определенном интервале времени.

4 Зависимость параметров канала от мембранного потенциала. Ионные каналы нервных волокон чувствительны к мембранному потенциалу. Это проявляется в том, что после начала деполяризации мембраны соответствующие токи начинают изменяться с той или иной кинетикой. Ион-селективный канал имеет сенсор, чувствительный к действию электрического поля. При изменении мембранного потенциала меняется величина действующей на сенсор силы, в результате эта часть ионного канала перемещается и меняет вероятность открывания или закрывания ворот, действующих по принципу «всё или ничего». Скачок напряжения на мембране, создаваемый при измерениях методом фиксации потенциала, приводит к тому, что большее число каналов открывается. Через них проходит больше зарядов, а значит, в среднем, протекает больший ток. Процесс роста проводимости канала определяется увеличением вероятности перехода канала в открытое состояние, а не увеличением диаметра открытого канала.

Ионные каналы могут быть чувствительны и к другим физическим воздействиям: механическим деформациям, связыванию химических веществ и т.д. В этом случае они являются структурной основой, соответственно, механорецепторов, хеморецепторов и т.д.

Ион-селективный канал состоит из следующих частей:

- 1) погруженной в бислой белковой части, имеющей субъединичное строение;
- 2) селективного фильтра, образованного отрицательно заряженными атомами кислорода, которые жестко расположены на определенном расстоянии друг от друга и пропускают ионы только определенного диаметра;
- 3) воротной части.

Нормальное положение ворот натриевого канала – закрытое. Под действием электрического поля увеличивается вероятность открытого состояния, ворота открываются, и поток гидратированных ионов получает возможность проходить через селективный фильтр.

Активный транспорт

Активный транспорт веществ через биологические мембраны имеет огромное значение. За счет активного транспорта в организме создаются разности концентраций, разности электрических потенциалов, давления, поддерживающие жизненные процессы, то есть с точки зрения термодинамики активный перенос удерживает организм в неравновесном состоянии, поддерживает жизнь, так как равновесие - это смерть организма. Существование активного транспорта веществ через биологические мембраны впервые было доказано в опытах Усинга (1949 год) на примере переноса ионов натрия через кожу лягушки.

Экспериментальная камера Усинга, заполненная нормальным раствором Рингера, была разделена на две части свежеизолированной кожей лягушки. В опыте исследовали однонаправленные потоки ионов натрия через

кожу лягушки в прямом и обратном направлениях. В случае пассивного транспорта отношение этих потоков описывается уравнением Усинга-Теорелла:

$$\frac{j_{м,вн}}{j_{м,нар}} = \frac{C_{нар}}{C_{вн}} e^{\frac{\Delta\varphi}{RT}} \quad (5.9)$$

На изолированной коже лягушки, разделяющей раствор Рингера, возникает разность потенциалов $\varphi_{вн}-\varphi_{нар}$ (внутренняя сторона кожи положительна по отношению к наружной). В установке имелось специальное устройство: электрическая батарея с потенциометром - делителем напряжения, с помощью которых компенсировалась разность потенциалов на коже лягушки: $\varphi_{вн}-\varphi_{нар} = 0$, что контролировалось вольтметром. Кроме того, концентрация ионов натрия с внешней и внутренней сторон поддерживалась одинаковой. При этих условиях, как видно из уравнения Усинга-Теорелла, $j_{м, вн} = j_{м, нар}$.

Суммарный поток ионов через мембрану должен был бы отсутствовать. Его наличие свидетельствовало бы о переносе ионов против перепада концентрации, то есть об активном переносе. Для доказательства этого в одну часть экспериментальной камеры были добавлены радиоактивные изотопы ^{22}Na , а в другую - ^{24}Na . ^{22}Na распадается с излучением жестких γ -квантов, излучение ^{24}Na фиксировалось по мягким β -лучам. Было показано, что поток ^{22}Na больше потока ^{24}Na . О наличии тока в цепи свидетельствовали и показания миллиамперметра.

Эти экспериментальные данные неопровержимо свидетельствовали о том, что перенос ионов натрия через кожу лягушки не подчиняется уравнению пассивного транспорта. Более того, оказалось, что суммарный поток ионов натрия исключительно чувствителен к факторам, влияющим на энергетический обмен в клетках кожи: наличию кислорода, действию разбавителей окислительного фосфорилирования, действию низких температур. Следовательно, речь должна идти об особом способе переноса ионов, названном впоследствии активным. Позднее было установлено, что активный

перенос ионов натрия в коже лягушки обеспечивается ионными насосами, локализованными в клетках базального эпителия. Работа насоса блокировалась специфическим ингибитором оубаином.

Дальнейшие исследования показали, что в биологических мембранах имеется несколько разновидностей ионных насосов, работающих за счет свободной энергии гидролиза АТФ, представляющих собой специальные системы интегральных белков, работающих как ферменты аденозинтрифосфатазы (АТФазы). Задачей этих ферментов является расщепление АТФ на АДФ и неорганический фосфат. Процесс распада сопровождается выделением энергии, которая расходуется на транспорт ионов в сторону увеличения электрохимического потенциала. Расщепление АТФ стимулируется ионами натрия и калия и зависит от наличия магния. Активный транспорт возможен только за счет сопряжения транспорта какого-либо вещества с реакцией гидролиза АТФ.

В настоящее время известны три типа электрогенных ионных насосов: K^+Na^+ насос, кальциевый насос и протонная помпа (водородный насос).

Натрий-калиевый насос поддерживает градиент концентраций ионов натрия и калия по обе стороны мембраны. Механизм сопряжения окончательно не выяснен. Вероятнее всего, энергия АТФ расходуется на изменение конформации транспортного белка, что изменяет его сродство (константу связывания) к тем или иным ионам. Транспорт всегда осуществляется в ту сторону, где сродство ниже. В клетке константа связывания переносчика с Na^+ значительно выше, чем с K^+ . Поэтому ионы натрия в клетке связываются с белком и транспортируются во внеклеточную среду. По другую сторону мембраны конформация белка меняется таким образом, что константа связывания с Na^+ уменьшается, а с K^+ - увеличивается. Структура ионсвязывающего участка белка в этом случае такова, что к нему могут присоединиться уже не три, а два иона калия, которые и переносятся в клетку.

Согласно современным представлениям, процесс активного транспорта Na^+ и K^+ происходит в следующие семь этапов.

1 В присутствии Mg^{2+} на внутренней стороне мембраны образуется комплекс фермента АТФазы с АТФ.

2 Присоединение АТФ изменяет конформацию фермента таким образом, что к образовавшемуся комплексу присоединяются три иона натрия.

3 Происходит фосфорилирование Na^+,K^+ - АТФазы и отщепление АДФ.

4 Ионсвязывающий центр фермента перемещается относительно толщины мембраны, в результате чего ион натрия оказывается на внешней стороне клетки.

5 Снаружи клетки вследствие уменьшения сродства фермента к ионам натрия и повышения сродства к калию происходит обмен этими ионами.

6 После отщепления фосфата фермент с присоединенными ионами калия снова изменяет положение относительно мембраны.

7 Ионы калия и неорганический фосфат высвобождаются в цитоплазму, и фермент возвращается в исходное состояние.

Таким образом, энергии, выделяющейся при гидролизе одной молекулы АТФ достаточно, чтобы вынести из клетки три иона натрия и внести два иона калия. Натрий-калиевый насос способствует не только повышению градиентов концентраций ионов, но и возрастанию градиента электрического потенциала, то есть является *электрогенным*, так как сумма вносимых зарядов неравна сумме выносимых. Межклеточная среда приобретает «более положительный» заряд по сравнению с клеткой за счет выноса одного «лишнего» положительного иона.

В мембранах саркоплазматического ретикулума мышечных клеток и цитоплазматических мембранах кардиомиоцитов существует Ca^{2+} -насос, работа которого во многом сходна с механизмом переноса ионов Na^+,K^+ -насосом. За один цикл, в процессе которого расходуется одна молекула АТФ, переносится два иона кальция.

Активный транспорт протонов может осуществляться как с помощью подвижных переносчиков, так и через мембранные каналы. Протонные ка-

налы представляют собой интегральные белки, образующие внутреннюю пору, где содержатся участки, к которым могут присоединяться протоны. Энергия АТФ расходуется на изменение конформации белковых молекул, вследствие чего сродство одних участков связывания к протонам понижается, а других - увеличивается, что заставляет протон перескочить на другой участок канала, сродство которого к протону на данный момент выше. Путем таких перескоков с одного участка связывания на другой ион водорода пересекает мембрану.

Перенос H^+ против градиентов их концентраций осуществляется не только за счет энергии, выделяющейся при гидролизе АТФ, но и за счет энергии фотонов. Этот способ используется галофильными бактериями, которые на свету выкачивают протоны из клетки, а энергию создавшегося градиента концентраций используют для синтеза АТФ.

5.7 Вторичный активный транспорт ионов

Помимо ионных насосов, рассмотренных выше, известны сходные системы, в которых накопление веществ сопряжено не с гидролизом АТФ, а с работой окислительно-восстановительных ферментов или фотосинтезом. Транспорт веществ в этом случае является вторичным, опосредованным мембранным потенциалом и/или градиентом концентрации ионов при наличии в мембране специфических переносчиков. Такой механизм переноса получил название вторичного активного транспорта. В плазматических и субклеточных мембранах живых клеток возможно одновременное функционирование первичного и вторичного активного транспорта. Примером может служить внутренняя мембрана митохондрий. Ингибирование АТФазы в ней не лишает частицу способности накапливать вещества за счет вторичного активного транспорта. Такой способ накопления особенно важен для тех метаболитов, насосы для которых отсутствуют (сахара, аминокислоты).

В настоящее время достаточно глубоко исследованы три схемы вторичного активного транспорта. Для простоты рассмотрен транспорт одновалентных ионов с участием молекул-переносчиков. При этом подразумевается, что переносчик в нагруженном или ненагруженном состоянии одинаково хорошо пересекает мембрану. Источником энергии служит мембранный потенциал и/или градиент концентрации одного из ионов.

Однонаправленный перенос иона в комплексе со специфическим переносчиком получил название *унипорта*. При этом через мембрану переносится заряд либо комплексом, если молекула переносчика электронейтральна, либо пустым переносчиком, если перенос обеспечивается заряженным переносчиком. Результатом переноса будет накопление ионов за счет снижения мембранного потенциала. Такой эффект наблюдается при накоплении ионов калия в присутствии валиномицина в энергизованных митохондриях.

Встречный перенос ионов с участием одноместной молекулы-переносчика получил название *антипорта*. Предполагается при этом, что молекула-переносчик образует прочный комплекс с каждым из переносимых ионов. Перенос осуществляется в два этапа: сначала один ион пересекает мембрану слева направо, затем второй ион - в обратном направлении. Мембранный потенциал при этом не меняется. Движущей силой этого процесса является разность концентраций одного из переносимых ионов. Если изначально разность концентрации второго иона отсутствовала, то результатом переноса станет накопление второго иона за счет уменьшения разности концентраций первого. Классическим примером антипорта служит перенос через клеточную мембрану ионов калия и водорода с участием молекулы антибиотика нигерицина.

Совместный однонаправленный перенос ионов с участием двухместного переносчика называется *симпортом*. Предполагается, что в мембране могут находиться две электронейтральные частицы: переносчик в комплексе с катионом и анионом и пустой переносчик. Поскольку мембранный потенциал в такой схеме переноса не изменяется, то причиной переноса может

быть разность концентраций одного из ионов. Считается, что по схеме симпорта осуществляется накопление клетками аминокислот. Калий-натриевый насос создает начальный градиент концентрации ионов натрия, которые затем по схеме симпорта способствуют накоплению аминокислот. Из схемы симпорта следует, что этот процесс должен сопровождаться значительным смещением осмотического равновесия, поскольку в одном цикле через мембрану переносятся две частицы в одном направлении.

6 Биоэлектрические потенциалы

Одна из важнейших функций биологических мембран – генерация и передача биопотенциалов. Это явление лежит в основе возбудимости клеток, регуляции мышечного сокращения, рецепции. В процессе жизнедеятельности в клетках и тканях могут возникать разности электрических потенциалов:

- 1) окислительно-восстановительные потенциалы – вследствие переноса электронов от одних молекул к другим;
- 2) мембранные – вследствие градиента концентрации ионов и переноса ионов через мембрану.

Биопотенциалы, регистрируемые в организме, – это преимущественно мембранные потенциалы.

Мембранный потенциал – разность потенциалов между внутренней и наружной поверхностями мембраны.

В исследовании биопотенциалов используют:

- 1) микроэлектродный метод внутриклеточного измерения потенциалов;
- 2) специальные усилители биопотенциалов;
- 3) исследование крупных клеток (аксон кальмара).

Стеклянный микроэлектрод представляет собой стеклянную микропипетку с оттянутым очень тонким кончиком. Металлический электрод такой толщины (0,1-0,5 мкм) пластичен и не может проколоть мембрану, кроме того, он поляризуется.

6.1 Потенциал покоя в клетках

Потенциал покоя – стационарная разность электрических потенциалов, регистрируемая между внутренней и наружной поверхностями мембраны в невозбужденном состоянии. Потенциал покоя определяется разной концен-

трацией ионов по разные стороны мембраны и диффузией ионов через мембрану.

Если концентрация какого-либо иона внутри клетки отлична от концентрации этого иона снаружи и мембрана проницаема для этого иона, возникает поток заряженных частиц через мембрану, вследствие чего нарушается электрическая нейтральность системы, образуется разность потенциалов внутри и снаружи клеток. При установлении равновесия выравниваются значения электрохимических потенциалов по разные стороны мембраны: т.к. $\mu = \mu_0 + RT \ln C + ZF\varphi$:

$$RT \ln C_{\text{вн}} + ZF\varphi_{\text{вн}} = RT \ln C_{\text{нар}} + ZF\varphi_{\text{нар}}. \quad (6.1)$$

Тогда формула Нернста для равновесного мембранного потенциала:

$$\varphi_m = \varphi_{\text{вн}} - \varphi_{\text{нар}} = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_{\text{вн}}}{C_{\text{нар}}}. \quad (6.2)$$

Согласно Бернштейну (1902), причина мембранного потенциала покоя – диффузия ионов калия из клетки наружу. По формуле Нернста равновесный мембранный потенциал составляет 120 мВ, что несколько больше модуля экспериментально измеренных значений потенциала покоя. Следует учитывать одновременную диффузию через мембрану ионов натрия, калия и хлора. В таком случае используют уравнение Гольдмана:

$$\varphi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_o}, \quad (6.3)$$

где P_K , P_{Na} , P_{Cl} – проницаемость мембраны для соответствующих ионов;

$[K^+]_o$, $[Na^+]_o$, $[Cl^-]_o$ – концентрации ионов снаружи клетки;

$[K^+]_i$, $[Na^+]_i$, $[Cl^-]_i$ – концентрации ионов внутри клетки.

В состоянии покоя проницаемость мембраны для ионов калия больше, чем для ионов хлора и значительно больше, чем для ионов натрия.

Мембранный потенциал, рассчитываемый по уравнению Гольдмана, по абсолютной величине меньше мембранного потенциала, рассчитанного по уравнению Нернста, ближе к экспериментальным данным в крупных клетках. И формула Нернста, и уравнение Гольдмана не учитывают активного транспорта ионов через мембрану, наличие в мембранах электрогенных ионных насосов, играющих важную роль в поддержании ионного равновесия в мелких клетках. В цитоплазматической мембране работают калий-натриевые АТФ-азы, перекачивающие калий внутрь клетки, а натрий из клетки. С учетом работы электрогенных ионных насосов для мембранного потенциала было получено уравнение Томаса (1972):

$$\varphi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{mP_K[K^+]_o + P_{Na}[Na^+]_o}{mP_K[K^+]_i + P_{Na}[Na^+]_i}, \quad (6.4)$$

где m – отношение количества ионов натрия к количеству ионов калия, перекачиваемых ионными насосами через мембрану.

Чаще всего натрий-калиевая АТФ-аза работает в режиме, когда $m = 3/2$, но всегда >1 . (для хлора нет ионных насосов). Коэффициент $m > 1$ усиливает вклад градиента концентрации калия в создание мембранного потенциала, поэтому мембранный потенциал, рассчитанный по Томасу, дает совпадение с экспериментальными значениями для мелких клеток.

6.2 Потенциал действия

Потенциал действия – это электрический импульс, обусловленный изменением ионной проницаемости мембраны и связанный с распространением по нервам и мышцам волны возбуждения.

В опытах по исследованию потенциала действия использовали 2 микроэлектрода, введенных в аксон. На первый микроэлектрод подается импульс от генератора прямоугольных импульсов, меняющий мембранный по-

тенциал. Мембранный потенциал измеряется при помощи второго микроэлектрода высокоомным регистратором напряжения.

Возбуждающий импульс вызывает лишь на короткое время смещение мембранного потенциала, которое быстро пропадает с восстановлением потенциала покоя. Когда возбуждающий импульс смещается еще дальше в отрицательную сторону, он сопровождается гиперполяризацией мембраны. Потенциал действия не формируется, когда возбуждающий импульс положительный (деполяризующий), но его амплитуда ниже порогового значения. Однако если амплитуда положительного деполяризующего импульса окажется больше порогового значения, то мембранный потенциал становится выше порогового потенциала и в мембране развивается процесс, в результате которого происходит резкое повышение мембранного потенциала и он становится положительным.

Достигнув некоторого положительного значения – потенциала реверсии, мембранный потенциал возвращается к значению потенциала покоя, совершив нечто вроде затухающего колебания.

В нервных волокнах и скелетных мышцах длительность потенциала действия составляет около 1 мс, в сердечной мышце – около 300 мс. После снятия возбуждения еще в течение 1-3 мс в мембране наблюдаются некоторые остаточные явления, во время которых мембрана рефрактерна (невозбудима).

Новый деполяризующий потенциал может вызвать образование нового потенциала действия только после полного возвращения мембраны в состояние покоя. Причем амплитуда потенциала действия не зависит от амплитуды деполяризующего потенциала. Если в покое мембрана поляризована (т.е. потенциал цитоплазмы отрицателен по отношению к внеклеточной среде), то при возбуждении происходит деполяризация мембраны (потенциал внутри клетки положителен) и после снятия возбуждения происходит реполяризация мембраны.

Характерные свойства потенциала действия:

- 1) наличие порогового значения деполяризующего потенциала;
- 2) закон «все или ничего», т.е., если деполяризующий потенциал больше порогового, то развивается потенциал действия, амплитуда которого не зависит от амплитуды возбуждающего импульса; если деполяризующий потенциал меньше порогового, то потенциал действия не развивается;
- 3) есть период рефрактерности, невозбудимости мембраны во время развития потенциала действия и остаточных явлений после снятия возбуждения;
- 4) в момент возбуждения резко уменьшается сопротивление мембраны.

Положительный потенциал реверсии имеет натриевую природу, т.к. именно диффузия натрия создает положительную разность потенциалов между внутренней и наружной поверхностями мембраны.

Можно менять амплитуду импульса потенциала действия, изменяя концентрацию натрия в наружной среде. При уменьшении наружной концентрации натрия амплитуда потенциала действия уменьшается, т.к. меняется потенциал реверсии. Если из окружающей клетку среды полностью удалить натрий, то потенциал действия вообще не возникает.

Если в состоянии покоя соотношение коэффициентов проницаемости мембраны аксона кальмара для разных ионов:

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0,04 : 0,45,$$

то в состоянии возбуждения:

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 20 : 0,45,$$

То есть при возбуждении коэффициент проницаемости для натрия увеличивается в 500 раз.

Возбуждение мембраны описывается уравнением Ходжкина-Хаксли:

$$I_m = C_m \frac{d\varphi_m}{dt} + \sum I_i \quad (6.5)$$

где I_m – ток через мембрану;

C_m – емкость мембраны;

$\sum I_i$ – сумма ионных токов через мембрану.

Электрический ток через мембрану складывается из ионных токов: ионов калия, натрия и других ионов (в том числе хлора), тока утечки, а также емкостного тока. Емкостный ток обусловлен перезарядкой конденсатора, который представляет собой мембрана, перетеканием зарядов с одной ее поверхности на другую. Его величина определяется количеством заряда, перетекающего с одной обкладки на другую за единицу времени. Каждый ионный ток определяется разностью мембранного потенциала и равновесного нернстовского потенциала, создаваемого диффузией ионов данного типа.

В целом, согласно теории Ходжкина-Хаксли, возбуждение элемента мембраны связано с изменением проводимости мембраны для ионов натрия и калия. Проводимости мембраны сложным образом зависят от мембранного потенциала и времени.

Если в каком-либо участке возбудимой мембраны сформировался потенциал действия, мембрана деполяризована, возбуждение распространяется на другие участки мембраны.

Локальные токи образуются и внутри клетки и на наружной ее поверхности. Локальные электрические токи приводят к повышению потенциала внутренней поверхности невозбужденного участка мембраны и к понижению наружного потенциала невозбужденного участка мембраны, оказавшегося по-соседству с возбужденной зоной. Таким образом, отрицательный потенциал покоя уменьшается по абсолютной величине, т.е. повышается. В областях, близких к возбужденному участку, мембранный потенциал повышается выше порогового значения. Под действием изменения мембранного потенциала открываются натриевые каналы, и дальнейшее повышение происходит уже за счет потока ионов натрия через мембрану. Происходит деполя-

ризация мембраны, развивается потенциал действия. Затем возбуждение передается дальше на покоящиеся участки мембраны.

Экспериментальной базой для создания модели генерации потенциала действия явились результаты опытов по разделению ионных токов возбужденного аксона. Для разделения токов использовали блокатор натриевого тока – тетродотоксин и блокатор калиевого тока – тетраэтиламмоний. Измерение входящих и выходящих токов проводилось в режиме фиксации потенциала. При введении в раствор тетродотоксина регистрировали временную зависимость выходящего тока калия при данном фиксированном значении мембранного потенциала. Затем величину фиксированного деполяризующего потенциала изменяли и снова регистрировали зависимость. То же самое делали для натрия. В результате выяснено:

- 1) чем ближе смещается фиксированный потенциал к значению равновесного потенциала, определяемого по уравнению Нернста для ионов натрия и калия, тем меньше значение соответствующего тока;

- 2) меняется временной ход токов калия и натрия.

Таким образом, экспериментально была показана зависимость токов натрия и калия от мембранного потенциала и от времени.

В серии опытов на аксоне кальмара было показано:

- 1) образование потенциала действия связано с переносом натрия и калия через мембрану;

- 2) проводимость мембраны для этих ионов меняется в зависимости от величины мембранного потенциала и времени.

В дальнейшем Ходжкин и Хаксли предложили математическую модель, которая описывала изменения проводимостей, а, следовательно, и токов ионов натрия и калия через мембрану в процессе возбуждения.

Основные постулаты модели Ходжкина и Хаксли:

- 1) в мембране существуют отдельные каналы для переноса ионов натрия и калия;

2) во внутренней структуре мембраны существуют некоторые заряженные частицы, управляющие проводимостью каналов. В зависимости от величины напряженности приложенного электрического поля эти гипотетические частицы могут передвигаться в мембране, и тем самым увеличивать или уменьшать потоки ионов натрия и калия через каналы.

Таким образом, Ходжкин и Хаксли обосновали ионную теорию возбудимых мембран и смогли удовлетворительно описать в рамках этой теории изменения ионной проводимости и процесс генерации потенциала действия нервной клетки. Модель Ходжкина-Хаксли не объясняла природу активирующих и блокирующих частиц и механизм их влияния на проводимость ионного канала.

Физическая интерпретация модели Ходжкина-Хаксли требует наличия внутри мембраны заряженных частиц, причем эти частицы должны передвигаться в зависимости от внешнего электрического поля. Таким образом, для подтверждения второго постулата модели необходимо зарегистрировать перемещения заряженных частиц внутри мембраны при изменении мембранного потенциала, т.е. зарегистрировать т.н. воротные токи. Трудность обнаружения воротных токов заключалась в том, что активирующих частиц внутри мембраны очень мало и, следовательно, низкое значение воротного тока по сравнению с ионными токами, проходящими через мембрану.

7 Биофизика мышечного сокращения

Наиболее изученными являются сократительные системы мышечной ткани. Мышечная ткань представляет собой совокупность мышечных клеток (волокон), внеклеточного вещества (коллаген, эластин и др.) и густой сети нервных волокон и кровеносных сосудов. Мышцы по строению делятся на: гладкие - мышцы кишечника, стенки сосудов, и поперечно-полосатые - скелетные, мышцы сердца. Независимо от строения все они имеют близкие механические свойства, одинаковый механизм активации и близкий химический состав.

Поперечно-полосатая структура мышечных волокон может наблюдаться под обычным микроскопом. Отдельное мышечное волокно имеет диаметр от 20 до 80 мкм и окружено плазматической мембраной толщиной 10 нм. Каждое отдельное волокно – это сильно вытянутая клетка. Длина отдельных волокон (клеток) может существенно варьироваться, в зависимости от вида мышцы, от сотен микрон до нескольких сантиметров. Внутри волокна, кроме известных органелл (ядро, ядрышко, митохондрии, аппарат Гольджи и др.), находятся сократительный аппарат клетки, состоящий из 1000–2000 параллельно расположенных миофибрилл диаметром от 1 до 2 мкм, а также клеточные органеллы: саркоплазматический ретикулум и система поперечных трубочек – Т-система.

В миофибриллах различают: А-зону – темные полосы, которые в поляризованном свете дают двойное лучепреломление, то есть обладают свойством анизотропии (отсюда и название: А-зона), I-зону – светлые полосы, не дающие двойного лучепреломления, то есть изотропные (отсюда название: I-зона). В области I-зоны проходит темная узкая полоса – Z-диск. Промежуток между двумя Z-дисками называется саркомером и является элементарной сократительной единицей мышечной клетки.

Саркомер – это упорядоченная система толстых и тонких нитей, расположенных гексагонально в поперечном сечении. Толстая нить имеет тол-

щину 12 нм и длину 1,5 мкм и состоит из белка миозина. Тонкая нить имеет диаметр 8 нм, длину 1 мкм и состоит из белка актина, прикрепленного одним концом к Z-диску.

Актиновая нить состоит из двух закрученных один вокруг другого мономеров актина толщиной по 5 нм. Эта структура похожа на две нитки бус, скрученные по 14 бусин в витке. В цепях актина регулярно примерно через 40 нм встроены молекулы тропонина, а сама цепь охватывает нить тропомиозина. При сокращении мышцы тонкие нити вдвигаются между толстыми. Происходит относительное скольжение нитей без изменения их длины. Этот процесс обусловлен взаимодействием особых выступов миозина – поперечных мостиков с активными центрами, расположенными на актине. Мостики отходят от толстой нити периодически на расстоянии 14,5 нм друг от друга.

В расслабленном состоянии миофибрилл молекулы тропомиозина блокируют прикрепление поперечных мостиков к актиновым цепям. Ионы Ca^{2+} активируют мостики и открывают участки их прикрепления к актину. В результате мостики миозина прикрепляются к актиновым нитям, расщепляются молекулы АТФ и изменяется конформация мостиков: их головки поворачиваются внутрь саркомера. Это приводит к генерации силы, скольжению актина относительно толстой нити миозина к центру саркомера, что вызывает укорочение мышцы. После окончания активации мостик размыкается, и саркомер возвращается в исходное состояние. При укорочении объем саркомера практически не меняется, а, следовательно, он становится толще, что и подтверждается на снимках поперечного сечения мышц с помощью электронной микроскопии. Каждый цикл замыкание-размыкание сопровождается расщеплением одной молекулы АТФ. Таким образом, актин-миозиновый комплекс является механохимическим преобразователем энергии АТФ. Рассмотренная структура и последовательность процессов называется моделью скользящих нитей.

Впервые скольжение нитей в саркомере было обнаружено английским ученым Х.Хаксли. Он же сформулировал модель скользящих нитей. Суще-

ственный вклад в разработку теории скользящих нитей внес В.И. Дещеревский.

Основные положения модели скользящих нитей:

- 1 Длины нитей актина и миозина в ходе сокращения не меняются.
- 2 Изменение длины саркомера при сокращении – результат относительного продольного смещения нитей актина и миозина.
- 3 Поперечные мостики, отходящие от миозина, могут присоединяться к комплементарным центрам актина.
- 4 Мостики прикрепляются к актину не одновременно.
- 5 Замкнувшиеся мостики подвергаются структурному переходу, при котором они развивают усилие, после чего происходит их размыкание.
- 6 Сокращение и расслабление мышцы состоит в нарастании и последующем уменьшении числа мостиков, совершающих цикл замыкания-размыкания.
- 7 Каждый цикл связан с гидролизом одной молекулы АТФ.
- 8 Акты замыкания-размыкания мостиков происходят, не зависимо друг от друга.

7.1 Биомеханика мышцы

Мышцы можно представить как сплошную среду, то есть среду, состоящую из большого числа элементов, взаимодействующих между собой без соударений и находящихся в поле внешних сил. Мышца одновременно обладает свойством упругости и вязкости, то есть является вязко-упругой средой. Для такой среды предполагаются справедливыми законы классической механики.

Фундаментальными понятиями механики сплошных сред являются деформация, напряжение, упругость, вязкость, а также энергия и температура.

Упругость – свойство тел менять размеры и форму под действием сил и самопроизвольно восстанавливать их при прекращении внешних воздействий. Упругость тел обусловлена силами взаимодействия его атомов и молекул. При снятии внешнего воздействия тело самопроизвольно возвращается в исходное состояние.

Вязкость – внутреннее трение среды.

Вязкоупругость – это свойство материалов твердых тел сочетать упругость и вязкость.

Деформация – относительное изменение длин:

$$\varepsilon = \Delta l/l, \quad (7.1)$$

где l – начальная длина,

Δl – значение удлинения.

Напряжение механическое – мера внутренних сил, возникающих при деформации материала. Для однородного стержня:

$$\sigma = F/S, \quad (7.2)$$

где S – площадь сечения,

F – сила, приложенная к стержню.

Упругая деформация возникает и исчезает одновременно с нагрузкой и не сопровождается рассеянием энергии. Для упругой деформации справедлив *закон Гука*:

$$\sigma_y = \varepsilon E, \quad (7.3)$$

где E – модуль Юнга, определяемый природой вещества.

При растяжении различных материалов, в общем случае, $E = f(\varepsilon)$. При малых растяжениях считают $E = const$.

В случае вязкой среды напряжение σ_v определяется скоростью деформации:

$$\sigma_s = \eta \frac{d\varepsilon}{dt} \quad (7.4)$$

где η – коэффициент вязкости среды.

Для вязкоупругой деформации характерна явная зависимость деформационного процесса от процесса нагружения во времени, причем при снятии нагрузки деформация с течением некоторого времени самопроизвольно стремится к нулю.

Для исследования характеристик сокращающихся мышц используют два искусственных режима:

1 *Изометрический режим*, при котором длина мышцы постоянна, а регистрируется развиваемая сила.

2 *Изотонический режим*, при котором мышца поднимает постоянный груз, а регистрируется изменение ее длины во времени.

При изометрическом режиме с помощью фиксатора предварительно устанавливают длину мышцы. После установки длины на электроды подается электрический стимул и с помощью датчика регистрируется функция.

Максимальная сила, которую может развивать мышца, зависит от ее начальной длины и области перекрытия актиновых и миозиновых нитей, в которой могут замыкаться мостики: при начальной длине саркомера 2,2 мкм в сокращении участвуют все мостики.

Поэтому максимальная сила генерируется тогда, когда мышца предварительно растянута на установке так, чтобы длины ее саркомеров были близки к 2,2 мкм.

При изотоническом режиме к незакрепленному концу мышцы подвешивают груз. После этого подается стимул и регистрируется изменение длины мышцы во времени.

Чем больше груз, тем меньше укорочение мышцы и короче время удержания груза. При некоторой нагрузке мышца совсем перестает поднимать груз; это значение и будет максимальной силой изометрического сокращения для данной мышцы.

Зависимость скорости укорочения от нагрузки является важнейшей при изучении работы мышцы, так как позволяет выявить закономерности мышечного сокращения и его энергетики. Она была подробно изучена при разных режимах сокращения Хиллом.

$$V(P) = \frac{b(P_0 - P)}{P + a}. \quad (7.5)$$

Выражение (7.5) называется «уравнение Хилла» и является основным характеристическим уравнением механики мышечного сокращения. P_0 – максимальное изометрическое напряжение, развиваемое мышцей, или максимальный груз, удерживаемый мышцей без ее удлинения; b – константа, имеющая размерность скорости, a – константа, имеющая размерность силы. Из уравнения следует, что максимальная скорость развивается при $P = 0$:

$$V_{\max} = \frac{bP_0}{a}. \quad (7.6)$$

При $P = P_0$ получаем $V = 0$, то есть укорочение не происходит. Работа, производимая мышцей при одиночном укорочении на величину Δl равна: $A = P\Delta l$.

Эта зависимость, очевидно, нелинейная, так как $V = f(P)$. Но на ранней фазе сокращения можно пренебречь этой нелинейностью и считать $V = const$. Тогда $\Delta l = V\Delta t$, а развиваемая мышцей мощность $W = dA/dt$ имеет вид: $W = PV$.

В результате получаем зависимость мощности от развиваемой силы:

$$W(P) = PV = P \cdot \frac{b(P_0 - P)}{P + a} \quad (7.7)$$

Мощность равна нулю при $P = P_0$ и $P = 0$ и достигает максимального значения при оптимальной величине нагрузки P_{opt} :

$$P_{opt} = \sqrt{a(P_0 + a)} - a. \quad (7.8)$$

Эффективность работы мышцы при сокращении может быть определена как отношение совершенной работы к затраченной энергии:

$$\xi_m = \frac{A}{\Delta E}. \quad (7.9)$$

Развитие наибольшей мощности и эффективности сокращения достигается при усилиях 0,3-0,4 от максимальной изометрической нагрузки для данной мышцы. Практически эффективность может достигать значений 40-60 % для разных типов мышц. Самая высокая эффективность наблюдается у мышц черепахи, достигающая от 75 % до 80 %.

Кинетические свойства мышцы. Стационарное сокращение имеет характер пластического течения. В нестационарных условиях проявляются упругие свойства мышцы. Так, в опытах по быстрому отпуску (quick release), в которых изометрически сокращенная мышца освобождается и испытывает быстрое изотоническое сокращение, наблюдаются медленно затухающие колебания. Частота этих колебаний порядка килогерц для мышц, длиной в несколько сантиметров.

Возникновение колебаний в мышце может определяться нелинейностью нестационарных кинетических уравнений, не содержащих упругости в явном виде. Возможность колебаний обусловлена в этом случае кинетикой замыкания и размыкания мостиков. С другой стороны, сам мостик является вязкоупругой системой. Напряжение, генерируемое замкнутым мостиком, может изменяться шаг за шагом, в зависимости от угла, под которым «головка» располагается относительно актина, а также от степени растяжения. Таким образом, причина колебаний при быстром отпуске состоит в упругой деформации самого мостика.

7.2 Электромеханическое сопряжение в мышцах

Электромеханическое сопряжение – это цикл последовательных процессов, начинающийся с возникновения потенциала действия (ПД) на сарколемме (клеточной мембране) и заканчивающийся сократительным ответом мышцы. В качестве примера рассмотрим процессы, обеспечивающие сокращение кардиомиоцита.

Процесс сокращения кардиомиоцита:

1) при подаче на клетку стимулирующего импульса открываются быстрые (время активации 2 мс) натриевые каналы, ионы Na^+ входят в клетку, вызывая деполяризацию мембраны;

2) в результате деполяризации плазматической мембраны в ней и в Т-трубочках открываются потенциалзависимые медленные кальциевые каналы (время жизни 200 мс), и ионы Ca^{2+} поступают из внеклеточной среды, где их концентрация $\sim 2 \cdot 10^{-3}$ моль/л, внутрь клетки (внутриклеточная концентрация $\text{Ca}^{2+} \sim 10^{-7}$ моль/л);

3) кальций, поступающий в клетку, активирует мембрану саркоплазматического ретикулума (СР), являющегося внутриклеточным депо ионов Ca^{2+} (в СР их концентрация достигает 10^3 моль/л), и высвобождает кальций из пузырьков СР, в результате чего возникает так называемый «кальциевый залп». Ионы Ca^{2+} из СР поступают на актин-миозиновый комплекс миофибрилл, открывают активные центры актиновых цепей, вызывая замыкание мостиков и дальнейшее развитие силы и укорочения саркомера;

4) по окончании процесса сокращения миофибрилл ионы Ca^{2+} с помощью кальциевых насосов, находящихся в мембране СР, активно заканчиваются внутрь саркоплазматического ретикулума;

5) процесс электромеханического сопряжения заканчивается тем, что K^+ пассивно выходит из клетки, вызывая реполяризацию мембраны;

6) ионы Ca^{2+} активно выводятся во внеклеточную среду с помощью кальциевых насосов сарколеммы.

Таким образом, в кардиомиоците электромеханическое сопряжение идет в две ступени: вначале небольшой входящий поток кальция активирует мембраны СР, способствуя большему выбросу кальция из внутриклеточного депо, а затем в результате этого выброса происходит сокращение саркомера.

Опыты показали, что:

1) отсутствие потока кальция извне клетки прекращает сокращение саркомеров;

2) в условиях постоянства количества кальция, высвобождаемого из СР, изменение амплитуды потока кальция приводит к хорошо коррелирующему изменению силы сокращения.

Поток ионов Ca^{2+} внутрь клетки выполняет таким образом две функции: формирует длительное (200 мс) плато потенциала действия кардиомиоцита и участвует в процессе электромеханического сопряжения.

Следует отметить, что не во всех мышечных клетках организма процесс сопряжения происходит, как в кардиомиоците. Так, в скелетных мышцах теплокровных потенциал действия короткий (2-3 мс) и медленный поток ионов кальция в них отсутствует. В этих клетках сильно развита Т-система поперечных трубочек, подходящих непосредственно к саркомерам близко к z-дискам. Изменения мембранного потенциала во время деполяризации через Т-систему передается в таких клетках непосредственно на мембрану СР, вызывая залповое высвобождение ионов Ca^{2+} и дальнейшую активацию сокращения.

Общим для любых мышечных клеток является процесс освобождения ионов Ca^{2+} и внутриклеточных депо – саркоплазматического ретикулума и дальнейшая активация сокращения. Ход кальциевого выброса из СР экспериментально наблюдается с помощью люминесцирующего в присутствии ионов Ca^{2+} белка экворина, который был выделен из светящихся медуз.

Задержка начала развития сокращения в скелетных мышцах составляет 20 мс, а в сердечной – несколько больше (до 100 мс).

8 Моделирование биофизических процессов

При изучении сложных систем исследуемый объект может быть заменен другим, более простым, но сохраняющим основные, наиболее существенные для данного исследования свойства. Такой более простой объект исследования называется моделью. Модель – это всегда некое упрощение объекта исследования и в смысле его структуры, и по сложности внутренних и внешних связей, но обязательно отражающее те основные свойства, которые интересуют исследователя.

Моделирование - это метод, при котором производится замена изучения некоторого сложного объекта (процесса, явления) исследованием его модели.

На идее моделирования по существу базируется любой метод научного исследования как теоретический, так и экспериментальный.

Основные этапы моделирования можно свести к следующим:

1 *Первичный сбор информации.* Исследователь должен получить как можно больше информации о разнообразных характеристиках реального объекта: его свойствах, происходящих в нем процессах, закономерностях поведения при различных внешних условиях.

2 *Постановка задачи.* Формулируется цель исследования, основные его задачи, определяется, какие новые знания в результате проведенного исследования хочет получить исследователь. Этот этап часто является одним из наиболее важных и трудоёмких.

3 *Обоснование основных допущений.* Другими словами, упрощается реальный объект, выделяются из характеристик не существенные для целей исследования, которыми можно пренебречь.

4 *Создание модели, ее исследование.*

5 *Проверка адекватности модели реальному объекту.* Указание границ применимости модели.

Таким образом, модель как бы согласовывает реальный объект с целью исследования: с одной стороны, упрощает объект, давая возможность провести исследование, но с другой – сохраняет то главное, что интересует исследователя.

В биофизике, биологии и медицине часто применяют физические, биологические, математические модели.

Физическая модель имеет физическую природу, часто такую же, что и исследуемый объект. Например, течение крови по сосудам моделируются движением жидкости по трубам (жестким или эластичным). При моделировании электрических процессов в сердце его рассматривают как электрический токовый диполь. Для изучения процессов проницаемости ионов через биологические мембраны реальная мембрана заменяется искусственной (например, липосомой). Липосома – физическая модель биологической мембраны. Физические устройства, временно заменяющие органы живого организма, также можно отнести к физическим моделям: искусственная почка – модель почки, кардиостимулятор – модель процессов в синусовом узле сердца, аппарат искусственного дыхания – модель легких.

Биологические модели представляют собой биологические объекты, удобные для экспериментальных исследований, на которых изучаются свойства, закономерности биофизических процессов реальных сложных объектах. Например, закономерности возникновения и распространения потенциала действия в нервных волокнах были изучены только после нахождения такой удачной биологической модели, как гигантский аксон кальмара. Опыт Усинга, доказывающий существование активного транспорта, был проведен на биологической модели – коже лягушки, которая моделировала свойство биологической мембраны осуществлять активный транспорт. Закономерности миокарда устанавливаются на основе модельных экспериментов на папиллярной мышце.

Математические модели – описание процессов в реальном объекте с помощью математических уравнений, как правило, дифференциальных. Для

реализации математических моделей в настоящее время широко используются компьютеры. С помощью ЭВМ проводят так называемые «машинные эксперименты», при исследовании патологических процессов в кардиологии, развития эпидемий и т.д. При этом можно легко изменять масштаб по времени: ускорить или замедлить течение процесса, рассмотреть процесс в стационарном режиме, как это предложено в модели сокращения мышцы (модель Дещеревского), и по пространству. Например, ввести локальную конфигурацию зоны патологии. Изменяя коэффициенты или вводя новые члены в дифференциальные уравнения, можно учитывать те или иные свойства, так, например, получать лекарственные препараты более эффективного действия. С помощью ЭВМ можно решать сложные уравнения и прогнозировать поведение системы: течение заболевания, эффективность лечения, действия фармацевтического препарата и т.д.

Основные требования, которым должна отвечать модель.

1. Адекватность – соответствие модели объекту, то есть модель должна с заданной степенью точности воспроизводить закономерности изучаемых явлений. Анализ адекватности должен проводиться и при выборе модели, и при сравнении результатов моделирования с поведением объекта.

2. Должны быть установлены границы применимости модели, то есть четко заданы условия, при которых выбранная модель адекватна изучаемому объекту, поскольку ни одна модель не дает исчерпывающего описания объекта. Границы применимости определяются теми допущениями, которые делаются при составлении модели. Как правило, чем больше допущений, тем уже границы применимости. Так, например, липосома является адекватной моделью биологической мембраны, если изучается проницаемость липидного бислоя мембран для различных веществ. Если же цель исследования – электрогенез в клетках, то в этом случае липосома не адекватная модель, границы ее применимости не удовлетворяют целям исследования.

Уравнением Нернста удовлетворительно описывает мембранную разность потенциалов для клетки, находящийся в покое, то есть в равновесном состоянии, тем самым являясь адекватной математической моделью системы в данном состоянии. Если же рассмотреть фазу деполяризации потенциала действия, когда состояние системы далеко от равновесного и идет поток ионов в клетку, это уравнение становится не адекватным данному процессу. Адекватной математической моделью процесса формирования потенциала действия в аксоне кальмара является модель Ходжкина – Хаксли.

Результатом моделирования является получение новых данных о протекании изучаемого процесса, его свойствах. Результат моделирования, как правило, не дает исчерпывающих сведений об изучаемом объекте, но углубляет наши знания о нем, позволяет проводить дальнейшие более сложные исследования. Так, например, в уравнении трехкомпонентной модели Хилла было показано существование вязкой компоненты при сокращении мышцы.

В биологии и медицине важное значение имеют модели роста численности и фармакокинетическая модель.

8.1 Математические модели роста численности популяции

Основоположником математических популяционных моделей принято считать Т. Мальтуса, работавшего в конце 18-го века. Закон Мальтуса, определяющий экспоненциальный рост популяции, имеет смысл лишь на ограниченных временных интервалах. Модели, предложенные в дальнейшем, стали описывать часто наблюдаемую в природе стабилизацию численности популяции, например, за счет внутривидовой конкуренции (модель Ферхюльста). Следующим крупным шагом считается моделирование взаимодействия двух и более видов, начатое в 20-х годах нашего столетия работами А. Лоттки и В. Вольтерра.

Рассмотрим три математические модели, позволяющие найти зависимость изменения численности популяции от времени для различных условий функционирования системы.

8.1.1 Модель естественного роста численности популяции (модель Мальтуса)

Создание модели проведем по вышеописанной схеме.

Реальная система: имеется некоторая популяция одного вида (микроорганизмы, зайцы и т.п.), в которой происходят жизненные процессы во всем их многообразии.

Постановка задачи. Найти законы изменения численности популяции во времени.

Основные допущения.

1 Существуют только процессы размножения и естественной гибели, скорости которых пропорциональны численности особей в данный момент времени.

2 Не учитываем биохимические, физиологические процессы.

3 Нет борьбы между особями за место обитания, за пищу (бесконечно большое пространство и количество пищи).

4 Рассматриваем только одну популяцию, нет хищников.

Модель.

Введем величины:

x – численность популяции в момент t ;

R – скорость размножения,

γ - коэффициент естественной гибели;

$\frac{dx}{dt}$ - скорость изменения численности популяции,

ε - коэффициент роста.

Тогда $R = \varepsilon x$, $S = -\gamma x$.

Составим дифференциальное уравнение баланса. Изменение численности особей в единицу времени определяется количеством рожденных за это время и умерших:

$$\frac{dx}{dt} = (\gamma - \sigma)x. \quad (8.1)$$

Начальное условие: при $t = 0$ численность особей $x = x_0$. Решением уравнения будет:

$$x = x_0 e^{\varepsilon \cdot t} \quad (8.2)$$

Анализ решения:

а) $\varepsilon < 0$ (при $\sigma > \gamma$), то есть скорость гибели больше скорости размножения. Численность особей со временем упадет до нуля;

б) $\varepsilon > 0$ (при $\sigma < \gamma$), то есть скорость размножения больше скорости гибели. Численность особей неограниченно растет со временем;

в) $\varepsilon = 0$ (при $\sigma = \gamma$), то есть скорость гибели равна скорости размножения. Численность особей не изменяется, оставаясь на начальном уровне.

Модель при $\varepsilon > 0$ адекватна реальности лишь до определенных значений времени. Согласно данной модели, рассматривающей уменьшение численности особей только за счет естественной гибели, их численность должна бесконечно возрастать со временем, что не соответствует реальности. При большом количестве особей возможно уменьшение их численности за счет других механизмов, например, за счет борьбы за место обитания, за пищу.

8.1.2 Модель изменения численности популяции с учетом конкуренции между особями (модель Ферхюльста)

Усложним рассмотренную выше модель. С целью получения решения, лучше описываемого изучаемый объект, среди допущений, приведенных в модели I, снимаем допущение 3. Пусть существует борьба между особями,

например, за место обитания, тем самым добавляется дополнительный источник гибели. Считая, что скорость гибели за счет конкуренции между особями пропорциональна вероятности встреч двух особей, можно записать $S = -\delta x \cdot x - \sigma x$ (δ - коэффициент пропорциональности). Тогда уравнение баланса численности особей:

$$\frac{dx}{dt} = \gamma x - \sigma x - \delta x^2 \quad (8.3)$$

Тогда с учетом, что при $t=0$ $x=x_0$, получим:

$$x(t) = \frac{x_0}{(\varepsilon - \delta \cdot x_0)x^{-\varepsilon t} + \delta \cdot x_0} \quad (8.4)$$

График зависимости $x(t)$ с течением времени выходит на стационарный уровень, $x_{ст} = \varepsilon / \delta$.

Модели I и II являются основой моделирования процессов в биотехнологии (например, для установления оптимальных режимов выращивания различных микроорганизмов).

8.1.3 Модель «хищник-жертва» (модель Вольтерра)

Рассмотрим математическую модель совместного существования двух биологических видов (популяций) типа "хищник - жертва", называемую моделью Вольтерра - Лотки.

Среди допущений, введенных в модели Мальтуса, снимем допущение 4. Пусть в некотором пространстве живут два вида особей: зайцы (жертвы) и рыси (хищники). Зайцы питаются растительной пищей, имеющейся всегда в достаточном количестве. Рыси могут питаться только зайцами.

Введем обозначения:

x – число жертв в момент времени t ;

y – число хищников в момент времени t ;

Уравнение баланса между численностью рождённых и гибнущих особей:

– жертвы

$$\frac{dx}{dt} = \gamma \cdot x - \sigma \cdot x - \alpha \cdot x \cdot y, \quad (8.5)$$

где γx – скорость размножения,

σx – скорость естественной гибели;

$\alpha x y$ – скорость гибели в результате встречи с хищником;

– хищники

$$\frac{dy}{dt} = \sigma \cdot x \cdot y - \beta \cdot y, \quad (8.6)$$

где $\sigma x y$ – скорость размножения;

βy – скорость естественной гибели.

Или

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = \gamma \cdot x - \sigma \cdot x - \alpha \cdot x \cdot y \\ \frac{dy}{dt} = \sigma \cdot x \cdot y - \beta \cdot y \end{cases} . \quad (8.7)$$

Это сложная система нелинейных дифференциальных уравнений. Сначала найдем стационарное решение $x=const$, $y=const$, то есть $dx/dt=0$, $dy/dt=0$. Система дифференциальных уравнений при этом сводится к алгебраическим:

$$\begin{aligned} x_{cm}(\varepsilon - \alpha y_{cm}) &= 0 \\ y_{cm}(\delta x_{cm} - \beta) &= 0 \end{aligned} \quad (8.8)$$

Опуская вычисления, приведем конечные уравнения для нахождения численности особей при малых отклонениях от стационарных значений:

$$\begin{aligned}x(t) &= x_{cm} + U_{\max} \sin \sqrt{\varepsilon\beta}t \\y(t) &= y_{cm} + V_{\max} \sin(\sqrt{\varepsilon\beta}t + \varphi_0).\end{aligned}\tag{8.9}$$

Таким образом, численности популяций x и y испытывают гармонические колебания относительно стационарных значений с одинаковой частотой $\omega = \sqrt{\varepsilon\beta}$, но смещенные по фазе на φ_0 . Периодичность изменения численности хищников и жертв наблюдалась и в природных условиях. Классическим примером этого может служить сообщество «рысь – заяц» в районе Гудзонова залива в Северной Америке. Изменения ежегодного отлова рысей и зайцев одной из североамериканских компаний в течение 50-ти лет указывали на колебания численности с определенной частотой, и максимум численности у зайцев всегда достигался чуть раньше, чем у рысей.

Модель «хищник-жертва» используется в настоящее время в медицине. Так при моделировании онкологических заболеваний опухолевые клетки рассматриваются как жертвы, а лимфоциты, которые могут их подавлять, как хищники. В этом случае моделирование позволяет получить новые знания о процессах межклеточного взаимодействия при этих патологиях, находить пути оптимальной стратегии лечения, создавать новые средства борьбы с ними.

8.2 Фармакокинетическая модель

Для описания кинетики изменения концентрации введенного в организм лекарственного препарата предлагается так называемая фармакокинетическая модель.

Поставим перед собой конкретную цель, а именно найти законы концентрации лекарственного препарата при различных способах и параметрах его введения и выведения.

В реальности ввод и вывод лекарства сопровождается большим числом разнообразных процессов. Это процессы всасывания в кровеносное русло при внесосудистом введении, перенос лекарства из крови к органам, удаление препарата из крови почками и др.

Основные допущения:

1 Не будем рассматривать систему органов, через которые последовательно проходит лекарство. Исключим многостадийность процессов ввода, переноса, вывода лекарственного вещества.

2 Не будем учитывать молекулярные механизмы процессов (например, проницаемость вещества, химические превращения).

3 Процессы ввода и вывода сведем к скорости.

Рассмотрим законы изменения $s(t)$ при различных способах введения лекарства.

1-й способ. Однократное введение лекарственного препарата – инъекция (это соответствует случаю, когда пациенту «сделали укол»).

Представим себе организм как систему объемом V , после введения, в которую лекарственного препарата массой m_0 , начинается его удаление из организма. Распределение препарата по объему предполагается равномерным. Скорость удаления p препарата из организма прямо пропорциональна его массе в организме: $p = -km$, где k – коэффициент удаления препарата из организма.

Скорость изменения массы лекарственного вещества в организме равна скорости его выведения p :

$$\frac{dm}{dt} = p \quad (8.10)$$

и, следовательно,

$$\frac{dm}{dt} = -km \quad (8.11)$$

Решение дифференциального уравнения (8.11), с учетом начального условия, что при $t=0$ масса введенного лекарственного $m=m_0$,

$$m = m_0 e^{-k \cdot t} . \quad (8.12)$$

Концентрация лекарственного препарата в организме (например, в крови), $c=m/V$:

$$c = \frac{m_0}{V} e^{-k \cdot t} , \quad (8.13)$$

или

$$c = c_0 e^{-k \cdot t} , \quad (8.14)$$

где V – объем крови,

c_0 – начальная концентрация.

Концентрация лекарственного препарата в крови будет непрерывно снижаться по убывающему экспоненциальному закону. Таким образом, при однократном способе введения лекарства не удастся поддерживать в крови его постоянную концентрацию.

2-й способ. Непрерывное введение препарата с постоянной скоростью – инфузия (это соответствует случаю, когда пациенту поставили капельницу).

В этом случае изменение массы лекарственного препарата в организме определяется не только скоростью его удаления p , но и скоростью введения Q – количеством лекарственного вещества, вводимого в организм за единицу времени:

$$\frac{dm}{dt} = Q - km . \quad (8.15)$$

Решение дифференциального уравнения (8.15) с учетом, что при $t=0$ масса $m=0$:

$$m = \frac{Q}{k} (1 - e^{-kt}) . \quad (8.16)$$

Концентрация лекарства в крови $c = \frac{Q}{kV}(1 - e^{-kt})$.

В начальный момент времени, при $t=0$, $c=0$. Через время $t \rightarrow \infty$ после начала введения лекарства устанавливается постоянная (стационарная) концентрация

$$c_{CT} = \frac{Q}{kV}. \quad (8.17)$$

Подобрав скорость введения лекарства $Q=kVc_{\text{опт}}$ (уровень $c_{\text{опт}}$ меньше уровня токсичности), добьемся того, что через некоторое время установится оптимальная концентрация $c_{\text{опт}}$, необходимая для терапевтического эффекта. При непрерывном способе введения лекарства удастся достигнуть заданного результата $c=c_{\text{опт}}$ только через некоторое время. Оптимальная концентрация может быть установлена в организме мгновенно при сочетании первого и второго способов.

3-й способ. Сочетание непрерывного введения лекарственного препарата (2-й способ) с введением нагрузочной дозы (1-й способ)

При этом фармакокинетическая модель примет вид:

$$c = \frac{Q}{kV} - \frac{1}{V} \left(\frac{Q}{k} - m_o \right) e^{-kt}. \quad (8.17)$$

Если выбрать соответствующую скорость введения лекарства $Q=kVc_{\text{онм}}$ и нагрузочную дозу $m_o=Q/k=Vc_{\text{онм}}$, постоянная концентрация $c=c_{\text{онм}}$ устанавливается мгновенно.

Таким образом, фармакокинетическая модель позволяет в пределах препарата во времени при различных способах его введения в организм, рассчитать оптимальное соотношение между параметрами ввода и вывода препарата для обеспечения необходимого терапевтического эффекта.

9 Элементы биофизики кровообращения

Сердечно-сосудистая система обеспечивает циркуляцию крови по замкнутой системе сосудов. Постоянная циркуляция крови в организме позволяет доставлять по всем клеткам вещества, необходимые для их нормального функционирования и удалять продукты их жизнедеятельности. Сердечно-сосудистая система – самосогласованная система со сложными взаимно-обратимыми связями.

9.1 Реологические свойства крови

Реология – это наука о деформациях и текучести вещества. Под реологией крови (гемореологией) понимают изучение биофизических особенностей крови как вязкой жидкости. Существует две модели жидкости:

1. *Идеальная жидкость* – жидкость, в которой нет сил трения между слоями и она абсолютно не растяжима и несжимаема.
2. *Вязкая жидкость* – жидкость, в которой учитываются силы трения между движущимися слоями.

Законы справедливые для идеальной жидкости

Уравнение неразрывности струи. Так как жидкость несжимаема (плотность всюду одинаковая), то через любое сечение трубы в единицу времени протекают одинаковые объемы жидкости:

$$Q = \frac{V}{t} = \frac{S \cdot l}{t} = S \cdot v = const, \quad (9.1)$$

где V – объем;

S – площадь поперечного сечения трубы;

$\frac{l}{t} = v$ – линейная скорость течения жидкости.

$$S_1 v_1 = S_2 v_2 \rightarrow \frac{S_1}{S_2} = \frac{v_2}{v_1}. \quad (9.2)$$

Уравнение Бернулли. Изменение полной энергии системы равно работе внешних сил, если не учитывать силы трения внутри системы:

$$P + \rho g h + \frac{\rho v^2}{2} = const, \quad (9.3)$$

где P – статическое давление,

$\rho g h$ – гидростатическое давление,

$\frac{\rho v^2}{2}$ – гидродинамическое давление.

Согласно уравнению Бернулли давление в потоке жидкости выше там, где скорость меньше и наоборот.

Законы течения вязких жидкостей

Вязкость (внутреннее трение) жидкости – свойство жидкости оказывать сопротивление перемещению одной ее части относительно другой.

Основной закон вязкой жидкости был установлен И. Ньютоном (1687 г.) – *формула Ньютона*:

$$F = -\eta \frac{dv}{dx} \cdot S \quad (9.4)$$

где F – сила внутреннего трения;

η – динамический коэффициент вязкости (вязкость крови в норме 0,004 – 0,005 Па · с);

dv/dx – градиент скорости, показывающий на сколько изменилась скорость при изменении на единицу расстояния в направления ОХ при переходе от слоя к слою (скорость сдвига);

S – площадь соприкасающихся слоев.

Наряду с динамическим коэффициентом вязкости рассматривают *кинематический коэффициент вязкости* $\nu = \frac{\eta}{\rho}$ (ρ – плотность жидкости).

Жидкости делятся по вязким свойствам на два вида: *ньютоновские и неньютоновские*.

Ньютоновской называется жидкость, коэффициент вязкости которой зависит только от природы и температуры. Для ньютоновских жидкостей $F \sim \frac{dv}{dx}$. Для них справедлива формула Ньютона, в которой коэффициент вязкости является постоянным параметром, не зависящим от условий течения жидкости.

Неньютоновской называется жидкость, коэффициент вязкости которой зависит не только от природы вещества и температуры, но и от условий течения жидкости, в частности, от градиента скорости. Коэффициент вязкости в этом случае не является константой. При этом вязкость жидкости характеризуется условным коэффициентом вязкости, который зависит от определенных условий течения жидкости (например, давления, скорости). Зависимость силы вязкости от градиента скорости становится нелинейной.

Кровь – неньютоновская жидкость. В наибольшей степени это связано с тем, что она обладает внутренней структурой, представляя собой суспензию форменных элементов в растворе – плазме. Плазма – практически ньютоновская жидкость. Поскольку 93 % форменных элементов составляют эритроциты, то при упрощенном рассмотрении – кровь – это суспензия эритроцитов в физиологическом растворе. Таким образом, внутренняя структура крови, а, следовательно, её вязкость, оказывается неодинаковой вдоль кровеносного русла в зависимости от условий течения.

Режимы течения крови разделяют на *ламинарное и турбулентное*

Ламинарное – это упорядоченное течение жидкости, при котором она перемещается слоями, параллельными направлению течения. При ламинарном течении скорость в сечении трубы изменяется по параболическому закону:

$$v = v_{\max} \left(1 - \frac{z^2}{R^2} \right), \quad (9.5)$$

где R – радиус трубы;

z – расстояние от оси;

v_{\max} – максимальная скорость.

С увеличением скорости движения ламинарное течение переходит в *турбулентное*, при котором происходит интенсивное перемешивание между слоями жидкости, в потоке возникают хаотические движения по сложным траекториям. Для турбулентного течения характерно нерегулярное, беспорядочное изменение скорости со временем в каждой точке потока.

Режим течения жидкости характеризуется числом Рейнольдса:

$$Re = \frac{\rho v D}{\eta} \quad (9.6)$$

где v – средняя скорость жидкости по поперечному сечению;

D – диаметр трубы;

ρ – плотность жидкости.

Если значение Re меньше критического, то имеет место ламинарное течение жидкости, если больше – течение становится турбулентным. Критическое значение числа Рейнольдса для крови равно 2000, для воды - 2300.

Турбулентное течение связано с дополнительной затратой энергии, поэтому в кровеносной системе это может привести к дополнительной нагрузке на сердце. Шум, возникающий при турбулентном течении крови, может быть использован для диагностики заболеваний.

9.2 Основные законы гемодинамики

Гемодинамика - один из разделов биомеханики, изучающий законы движения крови по кровеносным сосудам. Задача гемодинамики - устано-

вить взаимосвязь между основными гемодинамическими показателями, а также их зависимость от физических параметров крови и кровеносных сосудов.

К основным гемодинамическим показателям относятся *давление* и *скорость кровотока*.

Давление - это сила, действующая со стороны крови на сосуды, приходящаяся на единицу площади: $P = F/S$. Различают объемную и линейную скорости кровотока.

Объемной скоростью Q (единица измерения - $\text{м}^3/\text{с}$) называют величину, численно равную объему жидкости, перетекающему в единицу времени через данное сечение трубы: $Q = v/t$. *Линейная скорость* (единица измерения - $\text{м}/\text{с}$) представляет путь, проходимый частицами крови в единицу времени: $V=l/t$. Поскольку линейная скорость неодинакова по сечению трубы, то в дальнейшем речь будет идти только о линейной скорости, средней по сечению.

Линейная и объемная скорости связаны простым соотношением

$$Q = VS, \quad (9.10)$$

где S - площадь поперечного сечения потока жидкости.

При описании физических законов течения крови по сосудам вводится допущение, что количество циркулирующей крови в организме постоянно. Отсюда следует, что объемная скорость кровотока в любом сечении сосудистой системы также постоянна: $Q = \text{const}$.

В реальных жидкостях (вязких) по мере движения их по трубе потенциальная энергия расходуется на работу по преодолению внутреннего трения, поэтому давление жидкости вдоль трубы падает.

Для стационарного ламинарного течения реальной жидкости в цилиндрической трубе постоянного сечения справедлива формула (закон) Гагена-Пуазейля:

$$Q = \frac{\pi R^4}{8\eta} \cdot \frac{\Delta P}{l}, \quad (9.11)$$

где $\Delta P = P_1 - P_2$ - падение давления, то есть разность давлений у входа в трубу P_1 и на выходе из нее P_2 на расстоянии l .

Величина $W = \frac{8\eta l}{\pi R^4}$ называется гидравлическим сопротивлением сосуда.

Формулу Гагена-Пуазейля можно представить как $\Delta P = QW$. Очевидно, что падение давления крови в сосудах зависит от объемной скорости кровотока и в сильной степени от радиуса сосуда. Так, уменьшение радиуса на 20 % приводит к увеличению падения давления более чем в 2 раза. Даже небольшие изменения просветов кровеносных сосудов сильно сказываются на падении давления. Не случайно основные фармакологические средства нормализации давления направлены прежде всего на изменение просвета сосудов.

Границы применимости закона Пуазейля:

- 1) ламинарное течение;
- 2) гомогенная жидкость;
- 3) прямые жесткие трубки;
- 4) удаленное расстояние от источников возмущений (от входа, изгибов, сужений).

Рассмотрим гемодинамические показатели в разных частях сосудистой системы.

Гидравлическое сопротивление.

Гидравлическое сопротивление w в значительной степени зависит от радиуса сосуда. Отношения радиусов для различных участков сосудистого русла:

$$R_{\text{аорт}} : R_{\text{ар}} : R_{\text{кап}} = 3000 : 500 : 1.$$

Поскольку гидравлическое сопротивление в сильной степени зависит от радиуса сосуда $w \sim 1/R^4$, то можно записать соотношение $W_{\text{кап}} > W_{\text{ар}} > W_{\text{аорт}}$.

Линейная скорость кровотока.

Рассмотрим закон неразрывности (9.1). Площадь суммарного просвета всех капилляров в 500 - 600 раз больше поперечного сечения аорты. Это означает, что $V_{\text{кап}} = 1/500 V_{\text{аорт}}$. Именно в капиллярной сети при медленной скорости движения происходит обмен веществ между кровью и тканями.

Распределение среднего давления.

При сокращении сердца давление крови в аорте испытывает колебания. Среднее давление за период может быть оценено по формуле

$$P_{\text{ср}} \approx P_{\text{д}} + \frac{P_{\text{с}} - P_{\text{д}}}{3}. \quad (9.12)$$

Падение среднего давления крови вдоль сосудов может быть описано законом Пуазейля. Сердце выбрасывает кровь под средним давлением $P_{\text{ср}}$.

По мере продвижения крови по сосудам среднее давление падает. Поскольку $Q = \text{const}$, а $w_{\text{кап}} > w_{\text{арм}} > w_{\text{аорт}}$, то для средних значений давлений:

$$\Delta P_{\text{кап}} > \Delta P_{\text{артерий}} > \Delta P_{\text{аорт}}. \quad (9.13)$$

В крупных сосудах среднее давление падает всего на 15 %, а в мелких на 85 %. Это означает, что большая часть энергии, затрачиваемой левым желудочком сердца на изгнание крови, расходуется на ее течение по мелким сосудам.

9.3 Кинетика кровотока в эластичных сосудах. Пульсовая волна

Одним из важных гемодинамических процессов является распространение пульсовой волны.

Если регистрировать деформации стенки артерии в двух разноудаленных от сердца точках, то окажется, что деформация сосуда дойдет до более удаленной точки позже, то есть по сосуду распространяется волна пульсовых колебаний объема сосуда, давления и скорости кровотока, однозначно связанных с друг другом. Это так называемая пульсовая волна.

Пульсовая волна - процесс распространения изменения объема вдоль эластичного сосуда в результате одновременного изменения в нем давления и массы жидкости.

Рассмотрим характеристики пульсовой волны.

Амплитудой пульсовой волны $P_0(x)$ (пульсовое давление) называется разность между максимальным и минимальным значением давлений в данной точке сосуда. В начале аорты амплитуда волны (P_0) – максимальна и равна разности систолического (P_c) и диастолического (P_d) давлений. Затухание амплитуды пульсовой волны при ее распространении вдоль сосуда представлена формулой:

$$P_0(x) = P_0 e^{-\beta \cdot x} \quad (9.14)$$

где β – коэффициент затухания, увеличивающийся с уменьшением радиуса.

Скорость распространения пульсовой волны зависит от свойств сосуда и крови.

$$v = \sqrt{\frac{E \cdot h}{\rho \cdot D}}, \quad (9.15)$$

где E – модуль Юнга материала стенки сосуда или модуль упругости;

h – толщина стенки сосуда;

ρ – плотность крови;

D – диаметр просвета сосуда.

Скорость распространения пульсовой волны 8-10 м/с, что в 20-30 раз больше скорости движения крови (0,3-0,5 м/с). За время изгнания крови из

желудочков (время систолы 0,3 с) пульсовая волна успевает распространиться на расстояние два метра, т.е. охватить все крупные сосуды – аорту и артерии. С возрастом величина модуля упругости увеличивается в 2-3 раза, следовательно, возрастает и скорость пульсовой волны.

9.4 Фильтрация и реабсорбция жидкости в капилляре

При фильтрационно-реабсорбционных процессах вода и растворенные в ней соли проходят через стенку капилляра благодаря неоднородности ее структуры. Направление и скорость движения воды через различные поры в капиллярной стенке определяются гидростатическим и онкотическим давлениями в плазме и в межклеточной жидкости:

В связи с тем, что стенки капилляров свободно пропускают небольшие молекулы, концентрация этих молекул и создаваемые ими осмотические давления в плазме и в межклеточной жидкости примерно одинаковы. Что же касается белков плазмы, то их крупные молекулы лишь с большим трудом проходят через стенки капилляров, в результате выравнивания концентраций белков за счет диффузионных процессов не происходит. Между плазмой и межклеточной жидкостью создается градиент концентрации белков, а, следовательно, и градиент коллоидно-осмотического (онкотического) давления.

Между объемами жидкости, фильтрующейся в артериальном конце и реабсорбирующейся в венозном конце, в норме существует динамическое равновесие - фильтрационно-реабсорбционное равновесие. Примерно 10 % объема жидкости, поступающего в интерстициальное пространство, остается там и затем возвращается назад в сосуды с помощью лимфатической системы.

Одним из патологических проявлений, связанных с нарушением фильтрационно-реабсорбционного равновесия, является возникновение отеков. Отек - скопление избыточного количества жидкости в тканях организма в результате нарушения соотношения между притоком и оттоком тканевой жидко-

сти. Он возникает, если слишком много жидкости фильтруется из капилляров в ткань по сравнению с ее реабсорбцией или если есть нарушения в лимфатической системе, препятствующие нормальному возвращению жидкости в сосуды.

Можно выделить следующие главные факторы, приводящие к избыточному выходу жидкости в межклеточное пространство:

а) *увеличенное капиллярное давление на артериальном конце капилляра.* Оно возникает из-за уменьшения сопротивления артериол за счет их расширения, например, при сильном нагреве тела, при приеме сосудорасширяющих лекарств;

б) *уменьшенная концентрация белков в плазме.* Уменьшение концентрации белков в плазме происходит, например, при нефрозе - заболевании почек, характеризующемся преимущественным поражением почечных канальцев. При этом потеря белков в плазме крови связана с выделением большого их количества с мочой. Другой причиной уменьшения концентрации может быть недостаточное производство белков при заболеваниях печени или при плохом питании.

Поскольку альбумин составляет самую большую фракцию белков плазмы, то сдвиги в содержании альбумина особенно сильно влияют на онкотическое давление. Снижение концентрации альбумина в плазме часто приводит к задержке воды в межклеточном пространстве (интерстициальный отек). В связи с этим искусственные кровезаменители, как правило, должны обладать тем же онкотическим давлением, что и плазма. В качестве коллоидов в таких растворах часто используют полисахариды и полипептиды (желатин), так как получение в чистом виде белков плазмы крови человека очень дорогостоящая процедура;

в) *повышенная проницаемость капилляров* может быть обусловлена рядом веществ, например, выделяющихся при аллергических реакциях, воспалениях, инфекции, ожогах, действии радиации и др.

Часто отек является результатом совместного проявления различных эффектов. Когда повреждается структура стенки капилляра, например, при ожогах, белки плазмы диффундируют из капилляра в тканевую жидкость через большие поры за счет градиента концентрации. Это приводит к уменьшению онкотического давления в плазме и к увеличению его в межклеточной жидкости, а тем самым к уменьшению скорости реабсорбции, и, следовательно, к отеку. В этом случае результирующее онкотическое давление будет зависеть и от радиуса пор.

Список использованных источников

- 1 Биофизика: учебник / В.Ф. Антонов [и др.]. – М.: Владос, 2000. – 288 с. – ISBN 5-691-01037-9.
- 2 Рубин А.Б. Биофизика: учебник/А.Б. Рубин. – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 944 с. – ISBN 5-211-06109-8.
- 3 Волькенштейн М.В. Биофизика: учебник / М.В. Волькенштейн.– М.: Лань, 2008. – 608 с. – ISBN 978-5-8114-0851-1.
- 4 Ремизов А.Н. Учебник по медицинской и биологической физике: учебник / А.Н. Ремизов. – М: Дрофа, 2004. – 558 с. – ISBN 5-7107-8739-6.
- 5 Биофизика: учебник / Ю.А. Владимиров [и др.]. – М.: Медицина, 1983. – 279 с.
- 6 Присный, А.А. Биофизика: учебно-методический комплекс для бакалавров по дисциплине / А.А. Присный. – М., 2010. – 200 с.