

УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА  
Для студентов медицинских институтов

---

Ю.А.Владимиров  
Д.И.Рощупкин  
А.Я.Потапенко  
А.И.Деев

# Биофизика

Под редакцией профессора  
Ю. А. Владимирова

Допущено Главным управлением учебных заведений  
Министерства здравоохранения СССР  
в качестве учебника для студентов медицинских  
институтов

Сканирование, оцифровка:  
А. А. Шишкин  
Рязань  
23 апреля 2006



Москва. Медицина. 1983

УЧЕБНАЯ БИБЛИОТЕКА  
РЯЗ. МЕД. ИН-ТА

ББК 28.9

В 57

УДК 577.35(075.8)

ВЛАДИМИРОВ Ю. А., РОЩУПКИН Д. И., ПОТАПЕНКО А. Я., ДЕЕВ А. И. *Биофизика: Учебник.*— М.: Медицина, 1983, 272 с., ил.

Ю. А. ВЛАДИМИРОВ — проф., зав. кафедрой биофизики И ММИ им. Н. И. Пирогова; доктор биол. наук Д. И. РОЩУПКИН, канд. биол. наук А. И. ДЕЕВ — сотрудники этой же кафедры; канд. биол. наук А. Я. ПОТАПЕНКО — сотр. кафедры физики этого же института.

В учебнике дается исторический обзор развития биофизики. Излагается физическая сущность структурных основ организации и функционирования биообъектов на субмолекулярном, молекулярном, клеточном, тканевом уровнях и на уровне целого организма. Большое внимание уделено молекулярным механизмам сопряжения механических, электрических и энергетических процессов в клетках и тканях, механизмам нервного проведения, мышечного сокращения, кровообращения и др. Обсуждаются вопросы моделирования биофизических процессов, дается подробный анализ применения достижений биофизики в медицине.

Учебник написан в соответствии с программой, утвержденной Министерством здравоохранения СССР, и предназначен для студентов медицинских институтов.

В учебнике 113 рис.

Рецензенты: зав. каф. биофизики Московского Государственного университета проф. А. Б. РУБИН и зав. каф. физики Московского стоматологического института проф. Е. В. КОРТУКОВ.

В 2007020000—103 5—83  
039(01)—83

© Издательство «Медицина», Москва, 1983

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Биофизика — одна из фундаментальных биологических дисциплин. Ее развитие — необходимое условие дальнейших успехов смежных областей биологии, теоретической и практической медицины. Ее методы широко входят в практику исследовательских лабораторий и являются основой для разработки новых методов диагностики и лечения в клинике. Знание этой дисциплины — необходимый элемент общепрофессионального образования, а ее изучение помогает формированию научного мышления современного врача.

Авторы стремились отразить основные достижения биофизики как теоретической дисциплины, а с другой стороны, учебник должен также отражать специфику медицинского образования. Учитывая теоретический характер курса биофизики в медицинских вузах, значительно ограничено рассмотрение экспериментальных биофизических методов исследования. В то же время большое внимание уделено разделам биофизики тканей и органов.

В основу построения учебника положен принцип описания физических закономерностей, лежащих в основе жизнедеятельности организма: взаимодействие света с биомолекулами, формирование пространственной структуры биомолекул и их комплексов, транспорт веществ, электрогенез, биологическая подвижность, механические деформации, генерация и распространение волн деформации, рецепция в органах чувств.

Усвоение материала учебника предполагает знание читателем основ физики, элементов высшей математики, морфологии человека, а также биохимии и физиологии. По мнению авторов, преподавание биофизики нельзя вести, не используя математического описания физических явлений в живом организме. Для современной биофизики вообще характерно широкое применение математического аппарата. В учебнике уровень сложности математических

описаний не выходит за рамки подготовки студентов медицинских институтов по физике и математике. Однако в ряде случаев это достигнуто за счет сознательного упрощения изложения материала.

Введение, главы 5, 6, 8 написаны Ю. А. Владимировым, главы 7, 9, 10, 11, 12 — Д. И. Рощупкиным, главы 2, 13 — А. Я. Потапенко, а главы 1, 3, 4 — А. И. Деевым.

Авторы выражают благодарность за критическое рассмотрение рукописи в целом или отдельных глав М. Н. Жадину, Е. В. Кортукову, М. А. Островскому, А. Б. Рубину, Е. Н. Тимину, Б. И. Ходорову. Авторы признательны сотрудникам кафедры и отдела биофизики 2-го ММИ им. Н. И. Пирогова за помощь в подготовке рукописи к изданию.

А в т о р ы

## ВВЕДЕНИЕ

Методологическое значение биофизики велико. Один из основных принципов биофизики заключается в том, что биологические законы базируются на общих закономерностях физики и химии, являясь их дальнейшим развитием, которое в процессе эволюции привело материю к качественно новому уровню организации. Последовательное рассмотрение различных проявлений жизни с позиций физики и физикохимии совершенно не оставляет места для идеалистического и виталистического толкования жизненных явлений и процессов нарушения жизнедеятельности организма.

В последнее время было сформулировано несколько определений биофизики [Пасынский А. Г., 1966; Вепринцев Б. Н., 1967; Тарусов Б. Н., 1968; Блюменфельд Л. А., 1977; Волькенштейн М. В., 1978]. Обобщая эти определения, можно сказать, что биофизика — это наука, изучающая физические свойства биологических объектов, физические и физико-химические процессы, протекающие в этих объектах и лежащие в основе их функционирования.

Предметом медицинской биофизики является в первую очередь изучение организма человека и процессов, связанных с нарушением жизнедеятельности в этом организме.

В отношении разнообразия объектов исследования биофизика — одна из наиболее широких биологических дисциплин. Биофизики изучают физические свойства и явления на уровне сложных систем (например, организм — среда), отдельных органов, тканей, отдельных клеток, субклеточных структур, таких, например, как биологические мембраны или миофибриллы, на уровне макромолекул, например молекул белков или нуклеиновых кислот, и, наконец, на уровне электронной структуры биологически важных молекул. К области биофизики относят авиационную и космическую биомеханику или действие

внешних магнитных полей на электрические явления организма человека.

В соответствии с уровнем организации изучаемых объектов или с их принадлежностью к определенным функциональным системам строится классификация разделов современной биофизики.

Биофизику принято считать молодой наукой из-за ее бурного развития. Однако корни этой науки уходят в далекое прошлое. В 1756 г. М. В. Ломоносов выдвинул одну из первых научных гипотез цветного зрения. В те же годы Л. Эйлер, профессор Петербургского университета, провел математическое исследование движения крови в сосудах. И. М. Сеченов изучал биомеханику и газы крови. Исследования К. А. Тимирязева в области фотосинтеза по праву могут быть названы рождением фотобиофизики. В начале нашего века в области биофизики работали такие выдающиеся ученые, как А. Ф. Самойлов (биоакустика), П. П. Лазарев (ионная теория возбуждения), В. Ю. Чаговец (ионная теория возникновения биопотенциалов), Н. К. Кольцов (роль поверхностного натяжения, ионов и рН в морфогенезе). Открытие слабой хемилюминесценции, сопровождающей процессы жизнедеятельности («митогенетические лучи» А. Г. Гурвича) и гибели клеток («некробиотические лучи» Лепешкина), явления фотореактивации [Родионов С. Ф., Франк Г. М., 1934], метода электронного парамагнитного резонанса [Завойский Е. К., 1944], фундаментальные работы в области фотобиологии (А. Н. Теренин) — это лишь некоторые примеры таких биофизических исследований. Особенно большие успехи биофизика сделала в течение последних 10—15 лет. Это объясняется развитием молекулярной биологии и биологии клетки, успехами смежных дисциплин — физики и химии, созданием целого арсенала новейших приборов и методов исследования и, наконец, широким внедрением в биологию математического моделирования, основанного на применении ЭВМ.

Развитие методов исследования — один из решающих факторов в прогрессе всякой науки, и биофизика здесь не исключение. Большинство методов, применяемых в биофизике, в своем первоначальном варианте было заимствовано из физики или физической химии. Однако требования, налагаемые биологическим объектом и задачами исследования, привели к существенной трансформации первоначальных физических методов и приборов, так что

во многих случаях можно говорить о создании новых, биофизических методов. Так, например, техника измерения биопотенциалов нервных клеток с использованием микроэлектродов и аппаратуры для фиксации напряжения заметно отличается от электрометрических методов, применяемых в различных разделах физики. В тех же случаях, когда используются такие классические физические методы, как спектральный анализ, особенности биологических объектов (широкие полосы поглощения и флюоресценции, сильное светорассеяние в среде, низкие выходы флюоресценции и незначительные концентрации изучаемых веществ) заставляют разрабатывать аппаратуру, специально приспособленную для биологического эксперимента: дифференциальные спектрофотометры, спектрофлюориметры и т. д. Принципиально новой, разработанной специально для изучения структуры глобулярных белков оказалась техника рентгеноструктурного анализа, которая обусловила качественно новый этап в расшифровке структуры белковых молекул. Таких примеров можно привести много. Таким образом, современная биофизика вооружена целым арсеналом биофизических методов, специально приспособленных для решения биологических проблем.

Современная биофизика — одна из фундаментальных биологических дисциплин, и ее знание — необходимый элемент общепрофессиональной подготовки врача. Среди всех биологических дисциплин биофизика относится к числу наиболее точных наук. Ее стиль: логически строгое доказательство каждого положения, основанное на точных экспериментах, количественное описание явлений, широкое использование новейшей аппаратуры и методов исследования в сочетании с физическим и математическим моделированием — все это делает биофизику внешне более схожей с современной физикой, химией и математикой, чем с биологией и медициной прошлого, которые были преимущественно описательными науками. Вместе с тем стремление к точности и однозначности доказательств, количественному описанию явлений — характерная черта не только биофизики, но и вообще тенденция всей современной науки, в том числе биологии и медицины. Биофизика — лишь наиболее яркий выразитель этой общей тенденции. Она учит мыслить точными количественными категориями в тех областях науки, которые раньше поддавались только приблизительному качественному описанию.

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕРМОДИНАМИКА

Важнейшее свойство живых организмов заключается в их способности улавливать, преобразовывать и запасать энергию в различных формах. Общие законы, определяющие превращения энергии, изучаются термодинамикой.

Законы термодинамики универсальны для неживой и живой природы, но, формулируя их, мы не исследуем конкретной сущности процессов, происходящих при нагревании воды или при развитии эмбриона. Термодинамика — наука феноменологическая (от слова «феномен» — явление).

Феноменологические теории, в отличие от атомно-молекулярных, изучают закономерности, не связанные с конкретной структурой вещества.

Любую часть окружающего нас мира, которую мы хотим исследовать и описать с позиций термодинамики, называют системой. В качестве примера интересующих нас термодинамических систем можно назвать клетку, митохондрию, сердце, организм, биосферу. Следует, однако, отметить, что методы термодинамики приложимы 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.

Рассматривая применение законов термодинамики к биологическим проблемам, нам придется напомнить некоторые понятия и уравнения, известные из курса физической химии.

## 1.1. ПЕРВЫЙ И ВТОРОЙ ЗАКОНЫ ТЕРМОДИНАМИКИ

Согласно первому закону термодинамики, различные виды энергии могут переходить друг в друга, но при этих превращениях энергия не исчезает и не появляется из ничего. Это означает, что для замкнутой системы  $\Delta U = \Delta Q - W$ , где  $\Delta U$  — изменение внутренней энергии системы;  $\Delta Q$  — тепло, поглощенное системой;  $W$  — работа, совершенная системой над ее окружением. —

Внутренняя энергия отличается от теплоты и работы тем, что она всегда меняется одинаково при переходе из одного состояния в другое независимо от пути перехода.

Применимость первого закона термодинамики к живым системам была продемонстрирована в начале этого века Рубнером. В серии работ с микроорганизмами Рубнер показал, что энергия, поступающая в бактерии с пищей, разделяется в процессе потребления на две части: 1) выделяющуюся в среду в виде тепла и энергии, содержащейся в продуктах жизнедеятельности; 2) запасаемую в клеточном материале (эта энергия выявляется с помощью сжигания объектов в калориметрической бомбе). Сумма этих двух частей равна внутренней энергии поступающей пищи. Аналогичные экспериментальные подтверждения первого начала термодинамики были получены Этуотером при изучении теплового баланса человека с помощью калориметра, представляющего собой изолированную камеру, куда помещался человек.

Изменение тепловой энергии  $\Delta Q$  изолированной системы пропорционально абсолютной температуре ( $T$ ); коэффициент пропорциональности называется изменением энтропии ( $\Delta S$ ):  $\Delta Q = T\Delta S$ . Согласно второму закону термодинамики, энтропия изолированной системы возрастает в необратимом процессе и остается неизменной в обратимом процессе. Рост энтропии при самопроизвольных процессах означает переход системы, состоящей из большого числа молекул, в более вероятное состояние. Для характеристики систем, состоящих из большого числа частиц, используется понятие термодинамической вероятности  $\omega$ . Термодинамическая вероятность равна числу микросостояний, которыми может быть обеспечено данное макросостояние. Для примера рассмотрим, сколько микросостояний может иметь система, в которой 4 молекулы:  $a, b, v, z$  — рас-

пределяются по разные стороны мембраны. Каждому макросостоянию системы соответствует своя термодинамическая вероятность. Например, макросостоянию 2/2, в котором по каждую сторону мембраны находятся по две молекулы, соответствуют 6 микросостояний ( $\omega = 6$ ):  $ab/ba, av/bv, ag/bg, bg/ag, bv/av, ba/ab$ . Аналогично можно подсчитать термодинамическую вероятность других макросостояний:

Макросостояние:	0/4	1/3	2/2	3/1	4/0
$\omega$ :	1	4	6	4	1

Видно, что для макросостояния 2/2 число микросостояний  $\omega$  максимально и равно 6.

Совершенно ясно, что система в каждый данный момент времени вероятнее всего окажется в состоянии с максимальным  $\omega$ , т. е. состоянии 2/2. И поэтому самопроизвольные процессы будут идти в сторону этого макросостояния. Сравнительно нетрудно показать, что между величиной  $\omega$  и энтропией существует соотношение

$$S = k \ln \omega, \quad (1.1)$$

где  $k$  — постоянная Больцмана.

Это соотношение означает, что энтропия есть мера неупорядоченности системы: стремление энтропии к росту связано с тенденцией системы перейти в состояние с большей термодинамической вероятностью, т. е. менее упорядоченное. Примеры перехода систем в наиболее вероятное состояние показаны на рис. 1.

Из второго закона термодинамики следует невозможность превратить при постоянной температуре тепловую энергию в механическую работу. Работа связана с однонаправленным перемещением тел (зарядов и масс), т. е. с движением всех входящих в данное тело молекул в одном направлении. Именно поэтому кинетическую энергию летящего тела в принципе можно целиком превратить в работу. В работу можно превратить электрическую энергию, представляющую собой однонаправленное движение ионов или электронов в электрическом поле.

Тепловая энергия обусловлена хаотическим движением частиц, сумма векторов скорости которых в любом направлении равна нулю (рис. 1, а, состояние II). Поэтому кинетическая энергия этого теплового движения частиц не может быть непосредственно использована для работы.

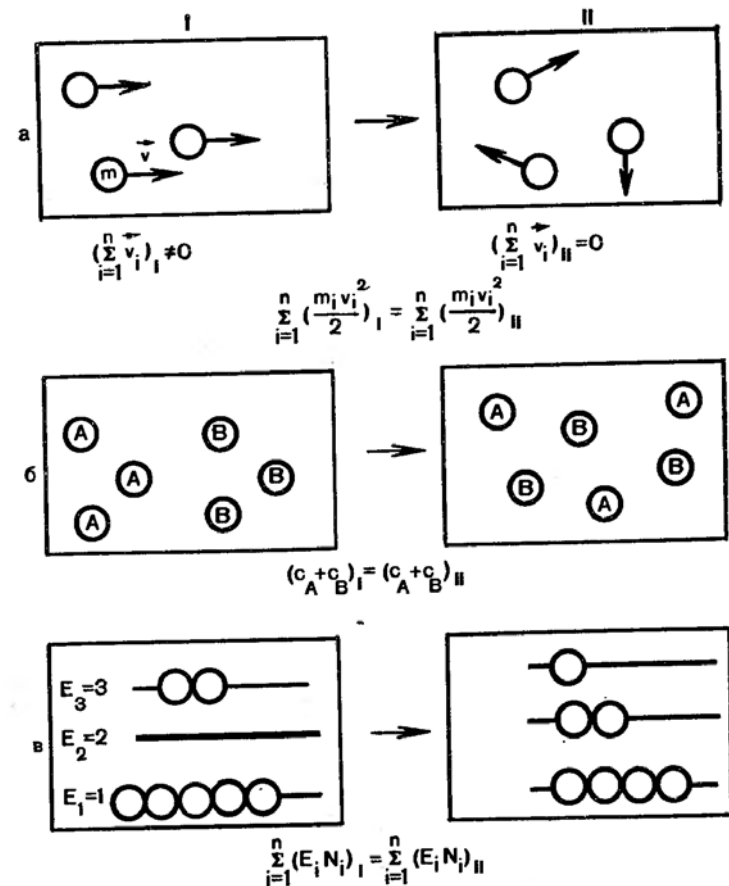


Рис. 1. Примеры перехода систем в наиболее вероятное состояние в направлении  $I \rightarrow II$  ( $S_{II} > S_I$ ).

а — изменение ориентации частиц (превращение кинетической энергии движущегося тела в тепло); б — изменение распределения частиц в пространстве (диффузия); в — изменение распределения частиц по энергетическим уровням;  $m_i$  — масса  $i$ -й частицы;  $\vec{V}_i$  и  $V_i$  — вектор скорости и его модуль  $i$ -й частицы;  $c_A, c_B$  — концентрация частиц типа А и В соответственно;  $E_i$  — энергия  $i$ -го энергетического уровня в условных единицах;  $N_i$  — число частиц на  $i$ -м энергетическом уровне;  $n$  — число частиц в системе.

## 1.2. ПРЕВРАЩЕНИЕ ЭНЕРГИИ В ЖИВОЙ КЛЕТКЕ

Солнечные лучи, поглощаясь зеленым листом, осуществляют процессы фотосинтеза, при которых энергия света  $E_c = nh\nu$  (где  $n$  — число поглощенных хлорофиллом фотонов;  $\nu$  — частота электромагнитных колебаний) превра-

щается в химическую энергию  $E_x$ , «запасенную» в органических соединениях, например, в глюкозе.

Химическая энергия глюкозы превращается в ходе клеточного окисления частично в тепло, а частично — в другую форму химической энергии, в энергию макроэргических связей АТФ. За счет гидролиза АТФ может происходить перенос веществ из области меньшей в область большей концентрации (осмотическая работа), перенос ионов в область более высокого электрического потенциала (электрическая работа), в организме животного — сокращение мышц (механическая работа). При этом происходит перевод части химической энергии АТФ в осмотическую, электрическую и механическую энергию.

В дальнейшем нам понадобятся приводимые в табл. 1 формулы и понятия, описывающие изменение количеств различных форм энергии и соответствующую этому работу при переходе системы из некоторого состояния 1 в состояние 2.

Таблица 1

Основные формы энергии в биосистемах

Форма энергии	Энергия в расчете:	
	на 1 молекулу	на 1 моль
Электрическая	$ze(\varphi_2 - \varphi_1)$	$zF(\varphi_2 - \varphi_1)$
Осмотическая	$kT \ln \frac{c_2}{c_1}$	$RT \ln \frac{c_2}{c_1}$
Химическая	$\mu_{O_2}^1 - \mu_{O_1}^1$	$\mu_{O_2} - \mu_{O_1}$

Примечание.  $e$  — заряд электрона ( $1,6 \cdot 10^{-19}$  Кл);  $F$  — 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);  $N_A = 6,02 \cdot 10^{23}$  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;  $k$  — постоянная Больцмана,  $k = 1,38 \cdot 10^{-23}$  Дж/К;  $\varphi$  — электрический потенциал;  $\mu_{O_1}^1$  ( $\mu_{O_1}^1$ ) и  $\mu_{O_2}^1$  ( $\mu_{O_2}^1$ ) — химические потенциалы в состоянии 1 и 2.

### 1.3. СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ И ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

Электрическая, осмотическая и химическая энергии могут быть использованы для совершения работы, т. е. для направленного перемещения тела против действующих на него сил. Количественной мерой превращения этих видов энергии служит изменение так называемой свободной энергии. Тепловая энергия при постоянной температуре не может быть использована для совершения работы. Протекание химических реакций в жидкой фазе не изменяет давления, но может вызывать изменение объема. Поэтому для таких систем вместо изменения внутренней энергии системы используется изменение ее энтальпии ( $\Delta H$ ), которое равно  $\Delta U + p\Delta V$ , где  $p$  — давление,  $\Delta V$  — изменение объема. Между изменением свободной энергии  $\Delta G$  и изменением энтальпии  $\Delta H$  при постоянном давлении и температуре существует соотношение, вытекающее из первого и второго законов термодинамики:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S. \quad (1.2)$$

В физико-химических системах изменение свободной энергии обычно описывают через изменение электрохимического потенциала  $\bar{\mu}$ :

$$\Delta G = m \cdot \Delta \bar{\mu}, \quad (1.3)$$

где  $m$  — количество вещества (моли) в системе. Изменение электрохимического потенциала при переходе системы из состояния 1 в 2 определяется изменением химической, осмотической и электрической энергий (см. табл. 1):

$$\Delta \bar{\mu} = \mu_{O_2} - \mu_{O_1} + RT \ln (c_2/c_1) + zF(\varphi_2 - \varphi_1). \quad (1.4)$$

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

- а) синтезировать 1 моль вещества (состояние 2) из исходных веществ (состояние 1) и поместить его в растворитель (слагаемое  $\mu_{O_2} - \mu_{O_1}$ ),
- б) сконцентрировать раствор от концентрации  $c_1$  до  $c_2$  (слагаемое  $RT \ln(c_2/c_1)$ ),
- в) преодолеть силы электрического отталкивания, возникающие при наличии разности потенциалов ( $\varphi_2 - \varphi_1$ ) между растворами (слагаемое  $zF(\varphi_2 - \varphi_1)$ ).

Заметим, что эти 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<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФ-азой и обеспечивается энергией гидролиза АТФ. Ион натрия при этом переносится из клетки наружу. Концентрация Na<sup>+</sup> внутри клеток (c<sub>1</sub>) равна 0,015 моль/л, а снаружи (c<sub>2</sub>) — 0,15 моль/л. Осмотическая работа на каждый моль перенесенного иона равна при 37° С  $RT \ln (0,15/0,015) = 5,9$  кДж/моль.

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

Так как с Na<sup>+</sup> 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 (1.4) находим  $\Delta\mu = 0 + 5,9 + 5,8 = 11,7$  кДж/моль.

#### 1.4. ВТОРОЙ ЗАКОН ТЕРМОДИНАМИКИ И УСЛОВИЕ РАВНОВЕСИЯ

Второй закон термодинамики гласит, что в изолированной системе не может увеличиваться свободная энергия. Иначе говоря, в системе, где  $\Delta H = 0$  [см. уравнение (1.2)],  $\Delta G = -T\Delta S \leq 0$ . Пока энергетические превращения в данной системе сопровождаются переходами разных видов энергии друг в друга без их перехода в тепло,  $\Delta G = 0$ , все эти процессы обратимы. Как только часть энергии превратится в тепловую, процесс становится необратимым в той степени, в которой произошел этот переход. Понятие обратимости процесса тесно связано с понятием динамического равновесия. Равновесие — это такое состояние системы, при котором каждая частица может переходить из некоторого состояния 1 в некоторое состояние 2 и обратно, но в целом доля состояний 1 и состояний 2 в системе не изменяется. В физико-химических (а следовательно, биологических) системах равновесны процессы, при которых  $\Delta\bar{\mu} = \Delta G/m = 0$ , т. е.

$$\mu_{02} - \mu_{01} + RT \ln (c_2/c_1) + zF(\varphi_2 - \varphi_1) = 0. \quad (1.5)$$

В равновесии могут находиться субстраты (А) и продукты (В) биохимической реакции ( $A \rightleftharpoons B$ ) или ионы по две стороны мембраны.

Остановимся на приложениях уравнения (1.5):

1) Уравнение константы химического равновесия. При чисто химической реакции  $\varphi_2 = \varphi_1$ , и в состоянии равновесия

$$-RT \ln ([B]/[A]) = \mu_{0B} - \mu_{0A}, \text{ или } \Delta\mu_0 = -RT \ln K, \quad (1.6)$$

где  $K$  — константа химического равновесия;  $\mu_{0A}$ ,  $\mu_{0B}$  — химические потенциалы состояний А и В.

2) Уравнение равновесного мембранного потенциала (уравнение Нернста). Если клеточная мембрана проницаема для какого-либо одного иона (обычно она хорошо проницаема для K<sup>+</sup>, иногда для Cl<sup>-</sup>), то на мембране устанавливается равновесный так называемый нернстовский потенциал  $\varphi_M$ , определяемый как разность ( $\varphi_2 - \varphi_1$ ). В водной среде по обе стороны мембраны для иона  $\mu_{01} = \mu_{02}$  и в равновесии:

$$\varphi_M = \varphi_2 - \varphi_1 = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_1}{c_2}, \quad (1.7)$$

где  $c_1(\varphi_1)$ ,  $c_2(\varphi_2)$  — концентрации K<sup>+</sup> (электрические потенциалы) снаружи и внутри клетки соответственно. При 310 К (37° С) получаем приблизительно  $\varphi_M = 60 \times \lg(c_1/c_2)$  мВ. В дальнейшем нам часто придется встречаться в выражении  $\varphi_M zF/RT$ ; назовем его безразмерным потенциалом:

$$\psi_M = \varphi_M zF/RT = \varphi_M ze/kT. \quad (1.8)$$

Теперь уравнение Нернста (1.7) можно записать в более компактной форме:

$$\psi_M = \psi_2 - \psi_1 = \ln \frac{c_1}{c_2}. \quad (1.9)$$

3) Распределение Больцмана. Если в молекуле существуют два энергетических электронных уровня с энергиями  $E_1$  и  $E_2$ , то можно найти заселенность этих уровней электронами в состоянии равновесия. Как и в предыдущем случае, считая  $\Delta\mu_0 = 0$ , получаем уравнение, аналогичное (1.7). Из электростатики известно, что энергия заряженной частицы в электрическом поле (в данном случае в собственном внутреннем поле молекулы)  $E = zF\varphi N_A$ .



Подставив это выражение в (1.7), получаем (для электрона  $z = -1$ ):

$$-(E_2 - E_1) = kT \ln \frac{c_1}{c_2}, \text{ или } n_1/n_2 = e^{-\Delta E/kT}, \quad (1.10)$$

где  $n_1$  и  $n_2$  — число частиц на двух энергетических уровнях в состоянии равновесия;

$$\Delta E = E_2 - E_1.$$

### 1.5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Для определения термодинамических параметров биологических систем используются два метода: определение теплопродукции (калориметрия) и измерение констант равновесия. Так как объект, находящийся в калориметре, не производит работы, изменение энергии (энтальпии) можно считать равным количеству выделившегося тепла  $\Delta Q$ . Так находят изменение энтальпии ( $\Delta H$ ), например, в ходе изучаемого биофизического процесса или биохимической реакции.

Независимо от этого производят вычисление свободной энергии процесса (реакции) по уравнению (1.3) и величины  $\Delta \mu_0$  по уравнению (1.6) на основании определения константы равновесия  $K$ , т. е. измерения равновесных концентраций субстратов и продуктов реакции.

Зная  $\Delta H$ , температуру  $T$  и  $\Delta G$ , можно по уравнению (1.2) рассчитать изменение энтропии в данном процессе ( $\Delta S$ ).

Существует также другой подход к изучению термодинамических параметров процесса, основанный на измерении констант равновесия при разных температурах. Этот метод пригоден только в том случае, когда ни изменение энтальпии системы ( $\Delta H$ ), ни изменение энтропии ( $\Delta S$ ) от температуры не зависят. В этом случае из уравнений (1.6) и (1.2) получаем для 1 моля вещества:

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}. \quad (1.11)$$

Это соотношение называется *уравнением Вант-Гоффа*. График зависимости  $\ln K$  от  $1/T$  представляет собой прямую линию, пересекающую ось абсцисс в точке  $\Delta S/\Delta H$ , ось ординат — в точке  $\Delta S/R$ .

Как известно, для построения прямой достаточно знания координат двух точек. Поэтому часто  $\Delta H$  и  $\Delta S$  находят, определив константу равновесия всего при двух температурах.

Для гидролиза АТФ при рН = 7,0 и 37°C этим способом было найдено  $\Delta H = 20$  кДж/моль,  $\Delta S = 0,0396$  кДж/(моль · град).

$$\Delta \mu_0 = -20 - 310 \cdot 0,0396 = -32,2 \text{ кДж/моль.}$$

### 1.6. ВТОРОЙ ЗАКОН ТЕРМОДИНАМИКИ И ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ

В литературе неоднократно высказывалось удивление по поводу того, что в живых организмах в ходе их роста и развития может происходить увеличение упорядоченности, которое, казалось бы, противоречит второму закону термодинамики. Противоречие это кажущееся.

С одной стороны, как справедливо указывают многие авторы (Л. А. Блюменфельд, Л. А. Николаев и др.), понятие энтропии вообще нецелесообразно использовать, когда речь идет о порядке в макроскопическом смысле, скажем, о дифференциации клеток, специализации клеточных структур и т. д. С другой стороны, организм постоянно совершает работу и растет, следовательно, общее количество свободной энергии в нем должно увеличиваться, что на первый взгляд противоречит второму закону термодинамики. Такой вывод, однако, основан на недоразумении. Свободная энергия не может увеличиваться лишь в изолированных системах. Ни один живой организм не является изолированной системой. Организм питается и с пищей (а растения и со светом) потребляет свободную энергию, которую потом расходует. В полном смысле слова изолированной можно считать систему организм — среда. Внутри такой системы в ее «живой» части, т. е. в организме, свободная энергия может увеличиваться, а энтропия — соответственно уменьшаться, но при непременном условии одновременного его увеличения в неживой части системы. Так, например, развитие зеленых растений на Земле происходило благодаря увеличению энтропии в системе Солнце — Земля. Известно, что и в состоянии покоя, и при выполнении работы может происходить рост и развитие организма, но одновременно идет непрерывное выделение тепла живыми организмами. Эта теплота диссипации представляет собой результат окисления веществ, заключен-

ных в пище, которое сопровождается ростом энтропии, значительно большим, чем снижение энтропии за счет роста организма и дифференцировки его клеток.

### 1.7. «ЭНЕРГОСОПРЯГАЮЩИЕ» СИСТЕМЫ КЛЕТКИ

Итак, изменение свободной энергии в ходе любого процесса определяет направление этого процесса: он идет в сторону уменьшения  $G$ . Например, для гидролиза фосфатной связи в комплексе  $Mg^{2+}$  — АТФ при рН 7,0 и 37° С по схеме  $АТФ + H_2O \rightarrow АДФ + Ф$  (где  $Ф$  — ион фосфорной кислоты) получено значение  $\Delta G = -30,5$  кДж/моль. В реакции  $АДФ + H_2O \rightarrow АМФ + Ф$ ,  $\Delta G = -30$  кДж/моль.

Значительное понижение свободной энергии при гидролизе АТФ и АДФ побудило биохимиков назвать эти соединения богатыми энергией, или макроэргическими.

Однако в живой клетке протекает множество реакций, которые сопровождаются увеличением свободной энергии ( $\Delta G > 0$ ). Например, синтез пептидной связи при образовании дипептида: аланин + глицин  $\rightarrow$  аланилглицин характеризуется  $\Delta G = 17,2$  кДж/моль, а фосфорилирование глюкозы при гликолизе по схеме глюкоза +  $Ф \rightarrow$  глюкозо-6-фосфат +  $H_2O$  характеризуется  $\Delta G = 13,4$  кДж/моль.

Эти процессы не могут идти самопроизвольно, они протекают за счет сопряжения с другими химическими реакциями, изменение свободной энергии которых отрицательно. Объединив первую и последнюю реакции, можно записать:  $АТФ + глюкоза \rightarrow АДФ +$  глюкозо-6-фосфат. Складывая изменения свободной энергии реакций при их

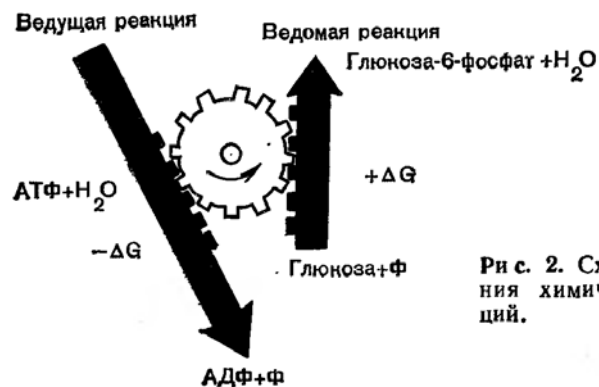


Рис. 2. Схема сопряжения химических реакций.

совместном протекании, получаем для фосфорилирования глюкозы с участием АТФ:  $\Delta G = -30,5$  кДж/моль +  $+ 13,4$  кДж/моль =  $-17,1$  кДж/моль.

Этот пример иллюстрирует основной способ преобразования энергии в клетке: химическая работа совершается путем подключения к реакции с «неблагоприятным» изменением свободной энергии реакций с большим отрицательным изменением свободной энергии (рис. 2). Чтобы осуществлять такое «сопряжение» процессов, клетке пришлось создать в ходе эволюции специальные молекулярные «энергопреобразующие» устройства, которые представляют собой ферментные комплексы, как правило, связанные с мембранами.

### 1.8. 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, как это делалось в предыдущих разделах, 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 Л. Онзагера и И. 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 при-

водит 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 (1.7).

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.

### 1.9. ПОТОКИ ВЕЩЕСТВ В РЕЗУЛЬТАТЕ ДИФФУЗИИ И ЭЛЕКТРОДИФФУЗИИ

Рассмотрим важные для биологических систем процессы переноса: перенос растворенного вещества вследствие диффузии и перенос электричества (электрический ток) в биологических системах.

Возьмем для примера перенос АТФ. АТФ синтезируется в митохондриях, и молекулы АТФ должны продиффундировать от внутренней митохондриальной мембраны к месту расхода АТФ, например к миофибриллам в мышечной клетке. Диффузия происходит в трехмерном простран-

стве и скорость ее по разным направлениям различна. Но мы будем для простоты всегда выбирать какое-то одно направление, которое нас интересует. Например, направление от данной митохондрии к данному участку миофибриллы в данной клетке. Это выбранное нами направление мы примем за ось координат  $x$ .

Кинетическая теория газов, применяемая во многих отношениях к разбавленным растворам веществ, дает уравнение переноса массы или другой физической величины  $A$  молекулами\*:

$$\Phi = - \frac{dA}{dt} \cdot \frac{1}{s} = - \frac{1}{3} \bar{v} \bar{\lambda} \frac{dA}{dx}, \quad (1.12)$$

где  $\Phi$  — плотность потока величины  $A$ , или просто поток;  $s$  — площадь сечения, через которое осуществляется перенос;  $\bar{v}$  — средняя скорость движения молекул;  $\bar{\lambda}$  — средняя длина пробега молекул;  $t$  — время.

Согласно эмпирическому уравнению Фика, плотность потока ( $\Phi$ ) диффундирующего вещества определяется выражением  $\Phi = -D \cdot dc/dx$ , где  $D$  — коэффициент диффузии, причем  $D = \bar{v}\bar{\lambda}/3$ . Величина  $dA/dx$  называется градиентом физической величины  $A$  в направлении  $x$ ,  $dc/dx$  — градиент концентрации растворенного вещества в данном направлении. Знак, «минус» указывает на то, что поток направлен в сторону убывания концентрации вещества.

Рассмотрим в качестве примера поток незаряженных частиц через биологическую мембрану (рис. 3). Если концентрация частиц слева от мембраны ( $c_{вн}$ ) выше, чем справа ( $c_{вв}$ ), то внутри мембраны создается градиент концентраций  $dc/dx$ . В уравнении  $\Phi = -Ddc/dx$  градиент концентрации в мембране можно считать постоянной величиной и тогда

$$\Phi = D \cdot (c_{вн} - c_{вв})/l, \quad (1.13)$$

где  $l$  — толщина мембраны, а  $c_{вн}$  и  $c_{вв}$  — концентрация вещества внутри мембраны у ее границ, которые определяются концентрациями  $c_{вн}$  и  $c_{вв}$  в водной фазе и коэффициентом распределения  $K$  вещества между мембраной и окружающей водной фазой:

$$c_{вн}/c_{вн} = c_{вв}/c_{вв} = K. \quad (1.14)$$

\* См., например, Ремизов А. Н. Курс физики. М.: Высшая школа, 1976, т. I, с. 127—128.

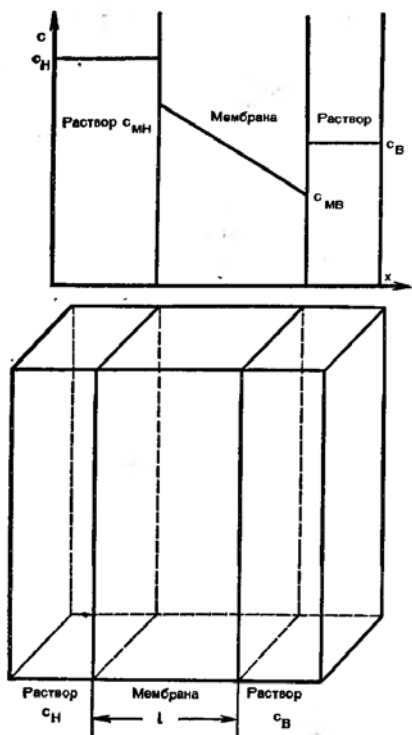


Рис. 3. Перенос незаряженных частиц через мембрану в клетку.

$c_H$ ,  $c_B$  — концентрации частиц в растворе снаружи и внутри клетки;  $c_{MH}$ ,  $c_{MB}$  — соответствующие концентрации частиц в мембране у ее поверхностей;  $l$  — толщина мембраны.

Окончательно поток через мембрану равен

$$\Phi = - \frac{DK}{l} (c_{BH} - c_{BH}) = - P (c_{BH} - c_{BH}), \quad (1.15)$$

где величина  $P$  называется коэффициентом проницаемости;  $P = DK/l$ . Это уравнение известно под названием закона Фика для пассивного переноса веществ (диффузии) через мембрану.

Рассмотрим диффузию с позиций превращения энергии. Перенос каждого моля вещества из области  $x_1$  с концентрацией  $c_1$  в область  $x_2$  с концентрацией  $c_2$  сопровождается высвобождением осмотической энергии  $\Delta G$ , равной  $RT(\ln c_2 - \ln c_1)$  (см. табл. 1). Разделив это выражение на  $(x_2 - x_1)$  и переходя к бесконечно малым, получаем

$$\frac{dG}{dx} = RT \frac{d \ln c}{dx} = RT \frac{1}{c} \frac{dc}{dx}. \quad (1.16)$$

Сравнивая это уравнение с уравнением Фика, находим:

$$\Phi = -uc \frac{dG}{dx}, \quad (1.17)$$

где  $u = D/RT$ .

Таким образом, поток пропорционален концентрации вещества и градиенту термодинамического потенциала в направлении потока. Коэффициент пропорциональности зависит от скорости диффузии молекул и называется подвижностью  $u$ .

Рассмотрим теперь перенос заряженных частиц (ионов).

В отсутствие градиента концентрации главная движущая сила при переносе ионов — электрическое поле. Если частица (ион) в водном растворе или внутри мембраны находится во внешнем электрическом поле с градиентом потенциала  $d\phi/dx$ , то она будет двигаться. Соблюдение закона Ома для таких систем означает, что между скоростью движения частицы  $v$  и действующей силой  $qd\phi/dx$  имеется линейная зависимость:  $v = uq(-d\phi/dx)$ , где  $q$  — заряд частицы. Коэффициент пропорциональности  $u$  называется подвижностью носителя заряда (иона). Переходя к плотности тока  $j = qnv$ , где  $n$  — число частиц в единице объема, получаем в направлении оси  $x$ :

$$j = q^2 nu (-d\phi/dx). \quad (1.18)$$

Поток частиц  $\Phi$  равен потоку электричества  $j$ , деленному на заряд каждой частицы  $q$ , т. е.

$$\Phi = j/q = -q \cdot nu (d\phi/dx). \quad (1.19)$$

Выразим  $\Phi$  как функцию градиента термодинамического потенциала. Поскольку  $q = ze$  ( $e$  — заряд электрона), то, согласно табл. 1, получаем для моля:

$$dG/dx = qN_A (d\phi/dx), \quad (1.20)$$

где  $N_A$  — число Авогадро. Сопоставив (1.19) и (1.20), получаем:

$$\Phi = -u \frac{n}{N_A}; \frac{dG}{dx} = -uc \frac{dG}{dx}, \quad (1.21)$$

где  $c$  — молярная концентрация частиц (кмоль/м<sup>3</sup>).

Это уравнение, как мы теперь видим, соблюдается и для явлений диффузии и для электрофореза в однородном растворителе. Теорелл в 1954 г. обобщил это выражение для случая, когда изменяется не только концентрация вещества  $c$  и потенциал  $\phi$ , но и химическое сродство иона к окружающей среде  $\bar{\mu}_0$  (в частности, к растворителю). Тогда уравнение потока приобретает следующий вид (уравнение Теорелла):

$$\Phi = -cu \frac{d\bar{\mu}}{dx}, \quad (1.22)$$

где величина  $\bar{\mu}$  — электрохимический потенциал [см. уравнение (1.3)].

Итак, поток равен произведению концентрации носителя на его подвижность и на градиент его электрохими-

ческого потенциала. Знак «минус» указывает на то, что поток направлен в сторону убывания  $\bar{\mu}$ . Потоки и термодинамические силы, обуславливающие протекание жизненно важных процессов, приведены в табл. 2. Подставив (1.4) в (1.22) и имея в виду, что в однородной среде  $d\bar{\mu}_0/dx = 0$ , получаем электродиффузионное уравнение Нернста — Планка:

$$\Phi = -uRT \frac{dc}{dx} - cuz F \frac{d\varphi}{dx}. \quad (1.23)$$

### 1.10. ТЕРМОДИНАМИКА СТАЦИОНАРНОГО СОСТОЯНИЯ

Онзагер сформулировал основы термодинамики, описывающей одновременное протекание различных взаимосвязанных стационарных процессов. Экспериментальной основой этой термодинамики являются феноменологические законы, устанавливающие наличие линейной зависимости между потоками и силами их вызывающими (табл. 2).

Таблица 2

Сопряженные потоки и силы в неравновесной термодинамике

Название процесса	Название потока	Обобщенная сила
1. Диффузия	Поток незаряженных частиц	Градиент концентрации ( $dc/dx$ )
2. Электродиффузия	Поток ионов	Градиент электрохимического потенциала ( $d\bar{\mu}/dx$ )
3. Электрический ток	Поток электронов	Градиент электрического потенциала ( $d\varphi/dx$ )
4. Течение жидкости	Объемный потск	Градиент гидростатического давления ( $dP/dx$ )

Допустим, что в системе имеются два потока — поток тепла ( $\Phi_1$ ) и диффузионный поток массы ( $\Phi_2$ ) и две обобщенные силы — разность температур  $X_1$  и разность концентраций  $X_2$ . Согласно Онзагеру, в открытой системе каждый поток зависит от всех наличествующих сил, и наоборот, т. е.

$$\begin{aligned} \Phi_1 &= L_{11}X_1 + L_{12}X_2, \\ \Phi_2 &= L_{21}X_1 + L_{22}X_2, \end{aligned} \quad (1.24)$$

где  $L_{12}$  и др. — коэффициенты пропорциональности между потоком 1 и силой 2 и т. д. Эти уравнения, получившие название феноменологических уравнений Онзагера, указывают на зависимость входных и выходных потоков как от сопряженных, так и от несопряженных им сил. Например,  $\Phi_1$  зависит не только от  $X_1$ , но и от  $X_2$ . Вблизи равновесия, как показал Онзагер, вклад от  $X_2$  в несопряженный этой силе поток  $\Phi_1$  равен вкладу от силы  $X_1$  соответственно в поток  $\Phi_2$ , т. е.  $L_{12} = L_{21}$ . Формулируя это утверждение по-другому, можно сказать, что равенство  $L_{12} = L_{21}$  означает, что равное действие вызывает равную ответную реакцию. Например, тормозящее действие, которое оказывает движущийся растворитель на растворенное вещество, равно сопротивлению, которое растворенное вещество оказывает на растворитель. Попарное равенство перекрестных коэффициентов (соотношение взаимности Онзагера) значительно упрощает решение систем уравнений.

Сопряжение потоков означает, что потоки сами по себе невозможные, сопровождающиеся повышением свободной энергии, могут оказаться возможными за счет других сил. Критерием возможности сопряжения потоков в системе является положительное значение диссипативной функции

$$\psi = \frac{T}{V} \cdot \frac{dS}{dt} > 0, \quad (1.25)$$

где  $T$  — абсолютная температура;  $dS/dt$  — скорость продукции энтропии;  $V$  — объем системы. Термодинамика показывает, что если система неравновесна, но близка к равновесию, то  $\psi$  может быть представлена суммой произведений обобщенных потоков  $\Phi_i$  и обобщенных сил  $X_i$ , т. е. суммой мощностей ( $\Phi_i X_i$ ) процессов:

$$\psi = \sum_{i=1}^n \Phi_i X_i > 0, \quad (1.26)$$

где  $n$  — число обобщенных сил в системе.

Положительное значение диссипативной функции как критерий возможности сопряжения потоков 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.

Термодинамика линейных необратимых процессов, т. е. процессов, где потоки и силы связаны линейно, объясняет особенности открытых систем — сопряжение потоков и возникновение стационарных неравновесных состояний. Важным вопросом теории стационарного состояния является вопрос о критериях такого состояния. В термодинамике линейных необратимых процессов доказывается, что стационарное состояние может быть охарактеризовано следующим принципом, получившим название *теоремы Пригожина*: в стационарном состоянии при фиксированных внешних параметрах скорость продукции энтропии в системе постоянна по времени и минимальна по величине.

Критерий эволюции системы в классической термодинамике состоит в том, что энтропия для необратимых процессов в изолированной системе стремится к максимальной величине (*критерий Клаузиуса*). В открытой системе производство энтропии для необратимых процессов стремится к минимуму (*критерий Пригожина*). Из теоремы Пригожина следует, что если система по той или иной причине выведена из стационарного состояния, то она будет изменяться до тех пор, пока удельная скорость продукции энтропии не примет наименьшего значения, т. е. достигает минимума диссипативная функция. Другими словами, эволюция открытой системы к стационарному состоянию описывается неравенством:

$$d\psi/dt \leq 0. \quad (1.27)$$

Теорема Пригожина разрешила важнейший для термодинамики линейных необратимых процессов вопрос о точной характеристике стационарного состояния открытой системы, что резко расширило область применения этого раздела термодинамики.

### 1.11. ПУТИ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ЭНЕРГИИ В ЖИВОЙ КЛЕТКЕ

Молекулярные механизмы преобразования энергии в клетке изучает биоэнергетика. Основные виды работы в живой клетке — электрическая и осмотическая — выполняются при непосредственном участии биологических мембран. После классических работ советского ученого В. А. Энгельгардта, открывшего в 1930 г. окислительное фосфорилирование, а в 1941 г. вместе с М. Н. Любимовой —

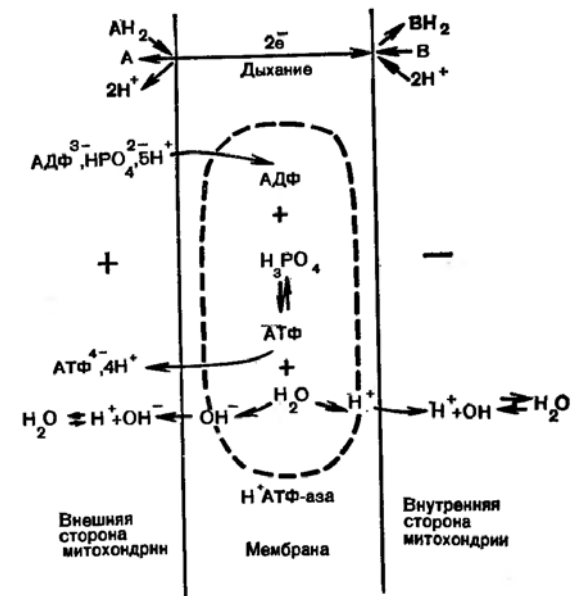


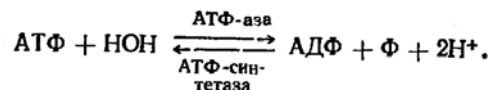
Рис. 4. Схема процессов при хемосмотическом сопряжении окисления и фосфорилирования. А — донор электронов; В — акцептор электронов.

— гидролиз АТФ миозином, стала ясной центральной роль процессов синтеза и распада АТФ в энергетике клетки. Окислительное фосфорилирование играет ведущую роль в обеспечении клетки запасами АТФ — этого главного аккумулятора химической энергии. Молекулярный механизм сопряжения реакций окисления и фосфорилирования был расшифрован лишь в самое последнее время благодаря работам П. Митчелла, получившего за них Нобелевскую премию в 1976 г.; автор разработал так называемую хемосмотическую теорию окислительного фосфорилирования. Большая заслуга в построении экспериментального фундамента этой теории принадлежит советским ученым — лауреатам Государственной премии СССР за 1975 г. Е. А. Либерману, В. П. Скулачеву, Л. М. Цофиной.

Основная идея хемосмотической теории может быть проиллюстрирована схемой на рис. 4. Согласно этой схеме, донор водорода АН₂ (например, аскорбат) окисляется переносчиком электронов (например, цитохромом с) у

внешней стороны «сопрягающей» мембраны (в митохондриях — это внутренняя мембрана). При этом  $2H^+$  остаются по ту же сторону мембраны, где был  $ADP$ , а два электрона переносятся через мембрану по дыхательной цепи и посредством цитохромоксидазы передаются акцептору водорода В, т. е. кислороду. Акцептор присоединяет два протона из внутренней фазы митохондриального матрикса, превращаясь в окончательный восстановленный продукт  $BH_2$ . Таким образом, перенос двух электронов по сопрягающему участку дыхательной цепи сопряжен с созданием градиента концентрации протонов — увеличением их концентрации с внешней и уменьшением — с внутренней стороны мембраны.

Вторая часть теории Митчелла заключается в том, что в мембране существует асимметричная АТФ-аза, которая работает обратимо, т. е. может быть и АТФ-синтетазой:



Асимметричность в действии АТФ-азы заключается в том, что протон  $H^+$  и гидроксил  $OH^-$  при гидролизе АТФ захватываются по разные стороны от мембраны. Наоборот, при синтезе АТФ вода диссоциирует на  $OH^-$ , поступающий в более закисленную от мембраны сторону, и  $H^+$ , диффундирующий в противоположную сторону (см. рис. 4). В целом процесс фосфорилирования АДФ осуществляется за счет изменения свободной энергии при нейтрализации иона  $OH^-$  в кислой среде, справа — иона  $H^+$  в щелочной среде.

С точки зрения преобразования энергии процесс окислительного фосфорилирования состоит из двух стадий.

1. Превращение химической энергии переноса электронов в энергию, связанную с разностью электрохимических потенциалов ( $\Delta\mu_{H^+}$ ) протонов в результате сопряжения переноса электрона по дыхательной цепи и переноса протона через мембрану; при этом

$$\Delta\mu_{H^+} = F\Delta\varphi_M + RT \ln ([H^+]_1/[H^+]_2), \quad (1.28)$$

где  $\Delta\varphi_M$  — разность электрических потенциалов между внешней и внутренней сторонами мембраны митохондрий;  $[H^+]_1$  и  $[H^+]_2$  — концентрации протонов в окружающей среде и внутри митохондрий.

2. Превращение энергии, определяемой разностью электрохимических потенциалов протонов, в химическую энергию макроэргической связи АТФ ( $\sim$ ) (сопряжение переноса  $2H^+$  и синтеза одной молекулы АТФ из АДФ и фосфата). Это условно можно изобразить в виде

$$\Delta\mu_{H^+} \rightarrow \sim.$$

Как показано в последние годы, при наличии разности электрохимических потенциалов  $H^+$  на сопрягающей мембране может совершаться не только химическая работа (синтез АТФ), но и осмотическая работа при транспорте различных соединений через мембраны, механическая работа (движение жгутиков у бактерий), может выделяться тепло (теплорегуляторное разобщение окислительного фосфорилирования).

Символически хемиосмотическая теория сопряжения процессов окисления (т. е. переноса электронов —  $e^-$ ) и фосфорилирования (синтез макроэргов —  $\sim$ ) может быть представлена в виде схемы:

$$\bar{e} \rightleftharpoons \Delta\mu_{H^+} \rightleftharpoons \sim. \quad (1.29)$$

Из этой схемы вытекают очевидные следствия, экспериментальное подтверждение которых явилось доказательством хемиосмотической теории. Основные следствия хемиосмотической теории следующие:

1. Если  $\Delta\mu_{H^+} = 0$ , то при переносе электронов не происходит синтез АТФ. Поэтому вещества, индуцирующие протонную проницаемость мембран (протонофоры), разобщают процессы окисления и фосфорилирования.

2.  $e^- \rightarrow \Delta\varphi_M$ , т. е. при работе дыхательной цепи происходит генерация мембранного потенциала.

3.  $\Delta\varphi_M \rightarrow \sim$ , т. е. создание достаточного по величине электрического потенциала на энергосопрягающей мембране со знаком «плюс» снаружи приведет к синтезу АТФ из АДФ и ортофосфата.

4.  $\Delta\varphi_M \rightarrow e^-$ , т. е. за счет мембранного потенциала можно остановить и даже «повернуть вспять» поток электронов в дыхательной цепи.

5.  $\sim \rightarrow \Delta\varphi_M$ , т. е. при гидролизе АТФ на сопрягающей мембране происходит генерация мембранного потенциала.

С точки зрения медицины важно, что многие патологические процессы в организме (гипоксия, тиреотоксикоз,

авитаминоз Е и др.) сопровождаются разобщением окислительного фосфорилирования в митохондриях, которое связано с нарушением барьерной функции внутренней мембраны митохондрий. Эти нарушения в большинстве случаев так или иначе связаны с изменениями состава и свойств липидов в мембранах. Известно четыре основных механизма модификации липидов, нарушающих сопрягающие функции мембраны: перекисное окисление ненасыщенных жирных кислот, расщепление фосфолипидов митохондриальной фосфолипазой, механическое растяжение мембраны (например, за счет избыточного осмотического давления внутри органелл или клеток) и изменение взаимодействий липидов и белков (например, адсорбция чужеродных белков, изменение конформации белков и т. д.).

## Глава 2

### КВАНТОВАЯ БИОФИЗИКА

Квантовая биофизика изучает электронную структуру биологически важных молекул, электронные переходы в этих молекулах и пути превращения энергии возбужденного состояния молекул в энергию их продуктов.

Квантовая биофизика рассматривает следующие конкретные вопросы:

- 1) структуру электронных энергетических уровней молекул;
- 2) донорно-акцепторные свойства биомолекул;
- 3) электронные переходы при поглощении света веществом и люминесценции;
- 4) свойства свободных радикалов и механизм свободнорадикальных процессов;
- 5) химические превращения электронно-возбужденных молекул, природу первичных фотопродуктов и их реакционную способность;
- 6) механизм хемилюминесценции, связанной с превращением энергии, выделяющейся в ходе биохимических реакций, в энергию электронно-возбужденных состояний.

Решение этих вопросов представляет интерес для медицины, так как знание первичных стадий действия ультрафиолетовой и видимой радиации на живые объекты — теоретическая и практическая основа фото- и фотохимиотерапии, а также использования света для регуляции нормальной жизнедеятельности организмов. Умение регули-

ровать свободнорадикальные реакции важно при терапии многих патологических процессов. С другой стороны, методы квантовой биофизики широко внедряются в медицину для диагностики и в исследовательской работе. К таким методам относятся спектрофотометрия, люминесцентный анализ, фотохимические методы, ЭПР-спектрометрия, хемилюминесценция и др.

### 2.1. ЭЛЕКТРОННЫЕ ПЕРЕХОДЫ В БИОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫХ МОЛЕКУЛАХ

Каждый электрон в молекуле находится на определенной орбитали и обладает определенной энергией. Таким образом, в молекуле существует система электронных энергетических уровней (рис. 5). Для химических и оптических свойств молекулы наиболее важны два уровня: это верхняя (по энергии) заполненная молекулярная орбиталь (ВЗМО) и нижняя свободная молекулярная орбиталь (НСМО). Значение энергии ВЗМО определяет *потенциал ионизации молекулы*, а следовательно, способность отдавать электрон (донорные свойства). Потенциалом ионизации называют энергию, которую необходимо затратить, чтобы оторвать электрон от молекулы. Чем выше энергия

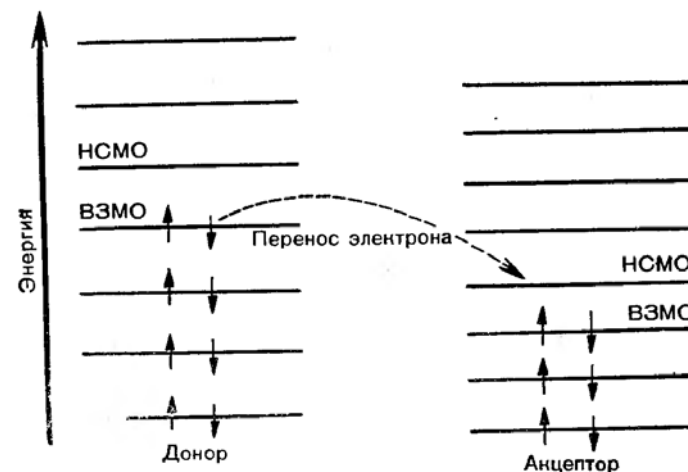


Рис. 5. Схема электронных молекулярных энергетических уровней и переноса электрона между двумя различными молекулами. Стрелками обозначены спины электронов.



ВЗМО, тем ниже потенциал ионизации молекулы и тем лучший она донор электронов. Например, высоким значением энергии ВЗМО обладает витамин Е, который поэтому легко отдает электрон в реакциях со свободными радикалами, что и обуславливает его антиоксидантные свойства (см. с. 44 и 59).

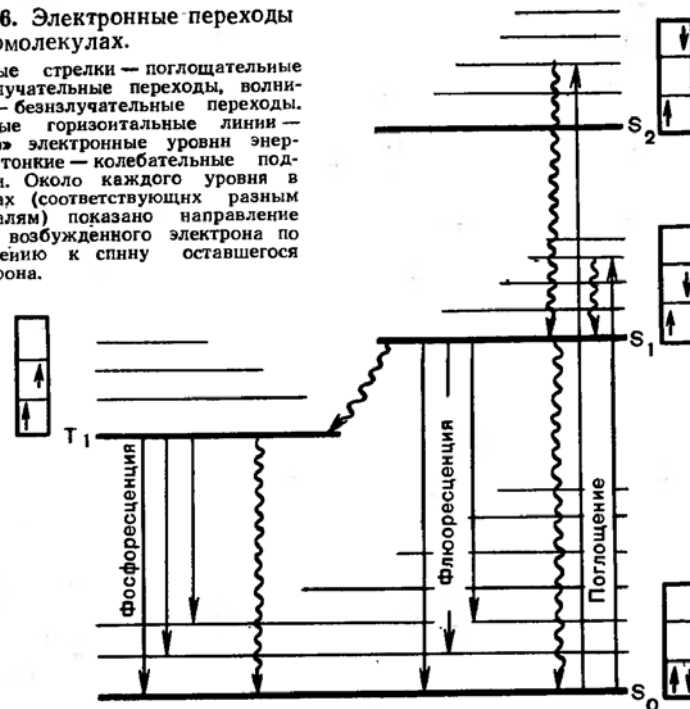
Энергия НСМО определяет акцепторные свойства молекулы: чем ниже НСМО, тем охотнее данная молекула присоединяет электрон. Количественно акцепторные свойства характеризуются *электронным сродством*, которое равно количеству энергии, освобождающейся при переносе свободного электрона из бесконечности на незанятую электронную орбиталь.

Окислительно-восстановительная реакция между донором и акцептором будет происходить, если энергия ВЗМО донора выше энергии НСМО акцептора (см. рис. 5). Следует, однако, помнить, что перенос одного, а тем более двух электронов сопровождается перестройкой в молекуле (изменением энергии уровней, включая ВЗМО и НСМО). Поэтому редокс-потенциал не вполне точно коррелирует с донорно-акцепторными свойствами молекул.

На каждом заполненном энергетическом уровне могут находиться только два электрона, имеющие противоположные собственные магнитные моменты (спины). Если молекуле сообщить энергию, например, в форме кванта света, то произойдет переход одного электрона с заполненного уровня (обозначаемого в спектроскопии  $S_0$ , рис. 6) на один из незаполненных уровней. Молекула при этом оказывается в электронно-возбужденном состоянии. Уровни  $S_0, S_1, \dots, S_n$  называются *синглетными*, при переходах между ними спин электрона не меняется. Время жизни молекул в состоянии  $S_1$  составляет  $10^{-8}$ — $10^{-9}$  с. Именно на уровне  $S_1$  решается дальнейшая судьба всех возбужденных молекул. С определенной вероятностью могут реализоваться следующие пути превращения энергии состояния  $S_1$ : 1) в тепло:  $S_1 \rightarrow S_0$ ; 2) испускание кванта флюоресценции:  $S_1 \rightarrow S_0 + h\nu_{фл}$ ; 3) фотохимическая реакция:  $S_1 \rightarrow$  продукт; 4) передача энергии возбуждения другой молекуле; 5) обращение спина электрона и переход молекулы в *триплетное возбужденное состояние*  $T_1$ :  $S_1 \rightarrow T_1$ . Переход из триплетного состояния в основное запрещен, так как спины электронов одинаковы. Поэтому в состоянии  $T_1$  молекула находится значительно дольше ( $10^{-4}$ — $10$  с), чем в  $S_1$  ( $10^{-8}$ — $10^{-9}$  с).

Рис. 6. Электронные переходы в биомолекулах.

Прямые стрелки — поглощательные и излучательные переходы, волнистые — безизлучательные переходы. Жирные горизонтальные линии — «чисто» электронные уровни энергии; тонкие — колебательные подуровни. Около каждого уровня в клетках (соответствующих разным орбиталям) показано направление спина возбужденного электрона по отношению к спину оставшегося электрона.



Существует несколько путей растраты энергии из триплетного ( $T_1$ ) состояния молекулы: 1) безизлучательный переход в  $S_0$  с обращением спина:  $T_1 \rightarrow S_0$ ; 2) испускание кванта фосфоресценции:  $T_1 \rightarrow S_0 + h\nu$ ; 3) фотохимическая реакция; 4) передача энергии возбуждения другой молекуле (см. рис. 6).

Общее название для любых излучательных переходов в молекуле (флюоресценции, фосфоресценции) — люминесценция.

## 2.2. ПОГЛОЩЕНИЕ СВЕТА БИОСИСТЕМАМИ

Способность молекул поглощать свет лежит в основе спектрофотометрии, широко используемой в биологии и медицине для качественного и количественного анализа и для выяснения химической структуры веществ. Поглощение света проявляется в ослаблении светового потока после прохождения через исследуемый объект, и оно тем

больше, чем выше концентрация вещества ( $c$ , моль · л<sup>-1</sup>), толщина раствора ( $l$ , см), способность вещества к поглощению. Для монохроматического света эти закономерности выражаются законом Бугера — Ламберта — Бера:

$$D = \lg \frac{I_0}{I} = \epsilon cl, \quad (2.1)$$

где  $D$  — так называемая оптическая плотность образца,  $I_0$  и  $I$  — интенсивности падающего и прошедшего света. Величину  $\epsilon$  (л · моль<sup>-1</sup> · см<sup>-1</sup>) называют *молярным коэффициентом поглощения*. Если заменить десятичный логарифм на натуральный и концентрацию выразить в числе молекул на 1 см<sup>3</sup>, то вместо  $\epsilon$  используют *поперечное сечение поглощения*  $s$  [см<sup>2</sup>], связанное с  $\epsilon$  соотношением:  $s = 3,8 \cdot 10^{-21} \epsilon$ . Физический смысл  $s$  — эффективное сечение молекулы, при попадании в которое происходит поглощение фотона данной длины волны.

Графики, выражающие зависимости  $D$ ,  $\epsilon$  или  $s$  от длины волны, называются *спектрами поглощения*.

Поглощение видимого и ультрафиолетового света происходит главным образом с участием  $\pi$ - и  $n$ -электронов ( $\pi \rightarrow \pi^*$ - и  $n \rightarrow \pi^*$ -переходы). Чем длиннее система сопряженных двойных связей в молекуле, т. е. чем сильнее делокализованы по молекуле  $\pi$ -электроны, тем при большей длине волны располагается самый длинноволновый максимум поглощения (рис. 7).

В биологии и медицине часто измеряют спектры поглощения не растворов, а мутных суспензий биологических частиц: эритроцитов, митохондрий, микроорганизмов. В таких оптически неоднородных средах наблюдается значительное светорассеяние и обусловленное этим кажущееся увеличение оптической плотности:

$$D_{\text{измеренная}} = D_{\text{поглощения}} + D_{\text{рассеяния}}. \quad (2.2)$$

На многих специально сконструированных для измерения мутных образцов спектрофотометрах поправка на  $D_{\text{рассеяния}}$  вводится автоматически. Чаще всего с этой целью кюветы помещают в интегрирующую сферу, собирающую рассеянный свет на фотоприемник.

В некоторых случаях количественную оценку содержания поглощающего свет вещества в образце проводят, регистрируя не спектры поглощения, а спектры отражения. Так, например, оценивают содержание гемоглобина в коже. Падающий монохроматический свет ( $I_0$ ), прони-

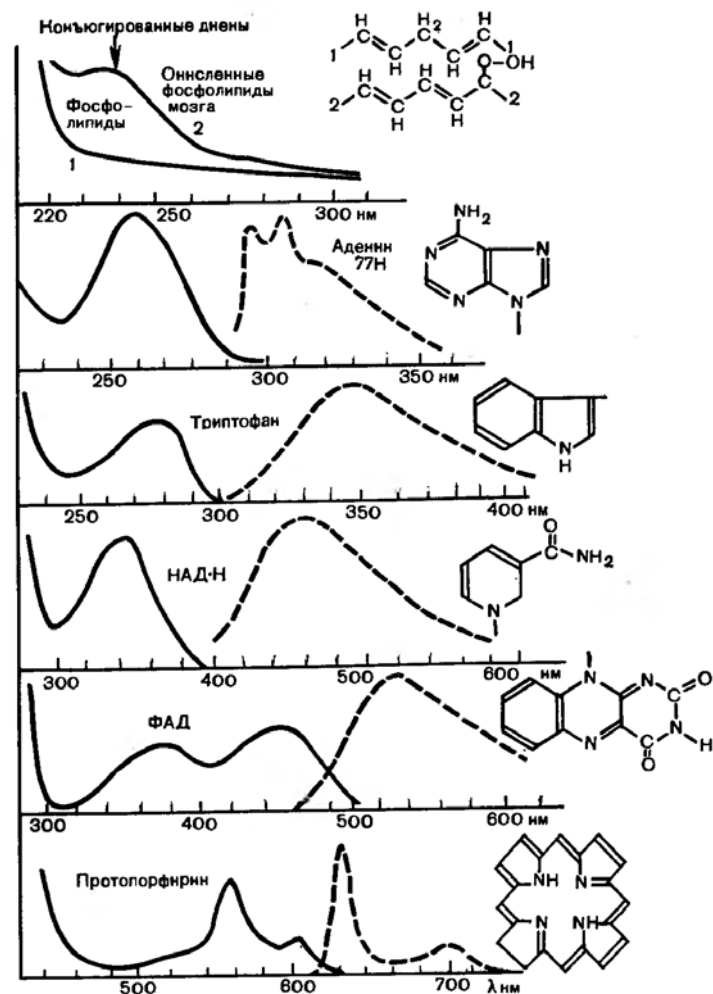


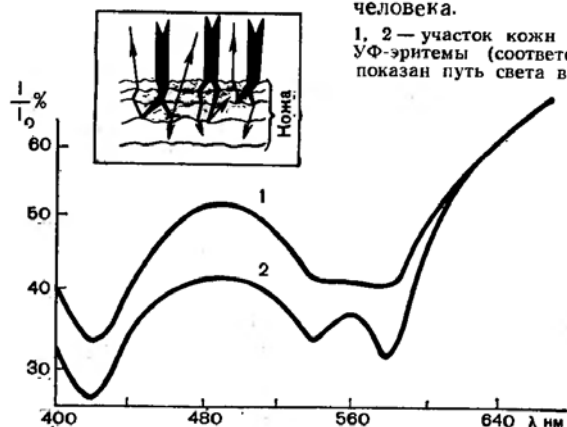
Рис. 7. Спектры поглощения и флюоресценции некоторых биологически важных соединений (структурные формулы хромофоров этих молекул приведены рядом со спектрами).

Сплошные кривые — оптическая плотность; точечные кривые — интенсивность флюоресценции.

кая в кожу, ослабляется за счет поглощения. Часть света после многократного рассеивания клетками кожи выходит обратно — отражается. Отношение интенсивности отраженного света ( $I$ ) к падающему называется отражательной

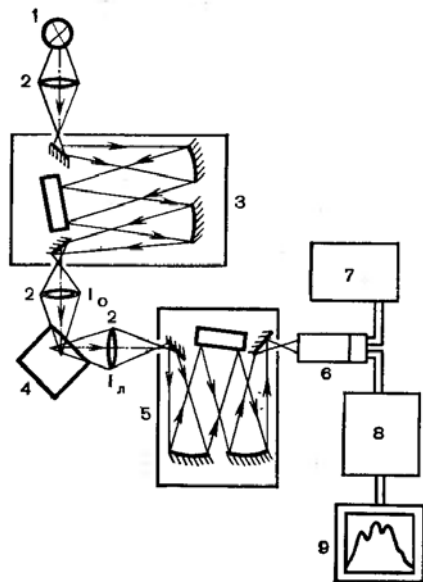
Рис. 8. Спектры отражения кожи человека.

1, 2 — участок кожи до и после развития УФ-эритемы (соответственно). На вставке показан путь света в коже.



способностью ( $I/I_0$ ). При эритеме, когда резко усиливается микроциркуляция и повышается содержание гемоглобина в коже, уменьшение отражательной способности в области поглощения гемоглобина (около 540 и 578 нм) служит количественным критерием эритемы (рис. 8).

### 2.3. ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ БИОСИСТЕМ



Регистрация люминесценции в биологии и медицине используется для качественного и количественного анализа, а также для изучения структуры и функции биосистем различной сложности: от мембран до целых органов и организмов. Из-

Рис. 9. Схема спектрофлуориметра.

1 — лампа; 2 — линзы; 3, 5 — монохроматоры; 4 — кювета с образцом; 6 — ФЭУ; 7 — блок питания ФЭУ; 8 — усилитель; 9 — самописец.  $I_0$  — возбуждающий свет;  $I_l$  — люминесценция образца.

мерение люминесценции проводят на спектрофлуориметрах (рис. 9). Главными параметрами люминесценции являются: спектр люминесценции, ее квантовый выход, спектр возбуждения люминесценции, поляризация люминесценции, время жизни молекулы в возбужденном состоянии.

Интенсивность люминесценции ( $I_l$ ) возрастает с увеличением интенсивности возбуждающего света ( $I_0$ ), способности вещества поглощать свет и его способности испускать кванты люминесценции. Из определения квантового выхода ( $\varphi$ ):

$$\varphi = \text{число излученных квантов} / \text{число поглощенных квантов} \quad (2.3)$$

ясно, что  $\varphi = I_l / (I_0 - I)$ , где  $I$  — интенсивность вышедшего света. Отсюда получаем следующее выражение для  $I_l$ :

$$I_l = \varphi \cdot (I_0 - I) = I_0 \cdot \varphi \cdot (1 - 10^{-\epsilon c l}) \quad (2.4)$$

В разбавленных растворах, когда максимальная  $D$  в исследуемой области спектра не превышает 0,1, можно с хорошим приближением записать:

$$I_l = 2,3 \cdot I_0 \cdot \varphi \cdot D = 2,3 \cdot I_0 \cdot \varphi \cdot \epsilon \cdot c \cdot l \quad (2.5)$$

Регистрацию люминесценции можно проводить несколькими способами. Если не менять длину волны возбуждения (монохроматор 3 на рис. 9), а проводить развертку спектра на регистрирующем монохроматоре (5 — рис. 9), то получится зависимость  $I_l$  от длины волны люминесценции, называемая спектром люминесценции. Так как испускание флюоресценции происходит всегда с нижнего возбужденного энергетического уровня ( $S_1$  на рис. 6), то форма спектра люминесценции (правило Каши) и квантовый выход (закон Вазилова) не зависят от длины волны возбуждающего света. Кроме того, максимум в спектре флюоресценции располагается в более длинноволновой области, чем длинноволновый максимум поглощения (закон Стокса), так как часть поглощенной энергии растрачивается в тепло.

Если регистрирующий монохроматор настроить на фиксированную длину волны люминесценции и производить развертку спектра возбуждающим монохроматором (рис. 9, 3), то получится зависимость  $I_l$  от длины волны возбуждающего света, называемая спектром возбуждения люминесценции. Спектры возбуждения — это график —  $I_l/I_0$  как функция  $\lambda_{\text{возб}}$ .

$$\frac{I_{\lambda}}{I_0} = \varphi \cdot (1 - 10^{-ac'}) = I_{\lambda}(\lambda_{\text{возб}}), \quad (2.6)$$

где  $\lambda_{\text{возб}}$  — длина волны возбуждающего света. Нормировку на  $I_0$  вводят, чтобы получить неискаженную зависимость  $I_{\lambda}$  от  $(1 - 10^{-ac'})$ , так как в каждом приборе  $I_0$  меняется при изменении  $\lambda_{\text{возб}}$ .

Из уравнений 2.5 и 2.6 ясно, что в разбавленных растворах  $I_{\lambda}$  пропорциональна концентрации, а спектры возбуждения по форме соответствуют спектрам поглощения люминесцирующих веществ. Это используется для идентификации природных соединений и их количественного анализа.

Рассмотрим теперь понятие *времени жизни молекул в возбужденном состоянии* ( $\tau$ ). Когда молекула оказалась в возбужденном состоянии, то существует некоторая вероятность того, что в данную единицу времени произойдет электронный переход  $S_1 \rightarrow S_0$ . Эта вероятность равна константе скорости перехода  $k(c^{-1})$ , которая по своему физическому смыслу эквивалентна константе всякой мономолекулярной реакции:

$$\frac{d[S_1]}{dt} = -k \cdot [S_1]. \quad (2.7)$$

Величина, обратная  $k$ , имеет размерность времени и называется *временем жизни молекулы в возбужденном состоянии*. После интегрирования выражения 2.7 и подстановки вместо  $k = \frac{1}{\tau}$  получим:  $\ln[S_1]_0/[S_1]_t = k \cdot t = t/\tau$ . А поскольку  $[S_1]$  пропорциональна  $I_{\lambda}$ , получаем:

$$\ln \frac{[S_1]_0}{[S_1]_t} = \ln \frac{I_{\lambda 0}}{I_{\lambda t}} = \frac{t}{\tau}, \quad (2.8)$$

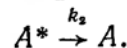
где индексы 0 и  $t$  относятся к начальному моменту времени и моменту  $t$  после начала измерения. При  $[S_1]_0/[S_1]_t = e$ ,  $t = \tau$ . Следовательно,  $\tau$  равно времени, в течение которого число возбужденных молекул (и интенсивность флюоресценции) уменьшится в  $e$  раз, т. е. до 37% от исходного уровня.

Как  $\tau$ , так и  $\varphi$  для данного соединения могут варьировать в зависимости от условий проведения опыта. В жидких растворах молекулы люминесцирующего соединения за время  $\tau$  успевают много раз столкнуться с молекулами растворителя или других веществ. При этом может про-

изойти безызлучательная растрата энергии возбуждения — *тушение люминесценции*. Эффективными тушителями люминесценции являются парамагнитные ионы ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и др.), молекулярный кислород, а также некоторые галогены (йод, бром и др.). Так как  $\tau$  триплетных состояний значительно выше, чем возбужденных синглетных, то и вероятность кинетического тушения триплетов будет значительно выше. Поэтому в жидких растворах флюоресценция бывает практически полностью потушена, а флюоресценция — только частично. Если образец охладить и заморозить до твердого состояния, то кинетическое тушение резко ослабевает и люминесценция усиливается.

Процессы дезактивации возбужденных молекул ( $A^*$ ) можно представить сеткой реакций.

1. Излучение люминесценции:  $A^* \rightarrow A + h\nu$ .
2. Безызлучательная внутримолекулярная растрата:



3. Тушение молекулами тушителя  $Q$ :  $A^* + Q \xrightarrow{k_q} A + Q$ .

Если процессы тушения отсутствуют ( $\varphi = 1$ ), то  $\tau$  называют *истинным временем жизни* молекулы в возбужденном состоянии и обозначают  $\tau_0$ . Очевидно, что  $\tau_0 = 1/k_1$ . Если имеет место тушение, то говорят о *реальном  $\tau$* , причем  $\tau = 1/(k_1 + k_2)$ ; а  $\varphi$  в таком случае равен  $k_1/(k_1 + k_2)$ . В присутствии тушителя в концентрации  $[Q]$ :

$$\tau_q = \frac{1}{k_1 + k_2 + k_q [Q]} \quad \text{и} \quad \varphi_q = \frac{k_1}{k_1 + k_2 + k_q [Q]}. \quad (2.9)$$

Разделив  $\varphi$  на  $\varphi_q$ , получим:

$$\frac{\varphi}{\varphi_q} = \frac{k_1 + k_2 + k_q [Q]}{k_1 + k_2} = 1 + \frac{k_q}{k_1 + k_2} [Q] = 1 + k_q \cdot \tau \cdot [Q]. \quad (2.10)$$

Заменив в уравнении 2.10  $k_q/(k_1 + k_2)$  на  $K$ , получим уравнение Штерна — Фольмера:

$$\frac{\varphi}{\varphi_q} = 1 + K [Q]. \quad (2.11)$$

Если квантовый выход люминесценции больше 1%, то такие соединения легко обнаруживаются люминесцентным методом. Нужно подчеркнуть, что когда мы имеем дело с ярко люминесцирующим веществом, то флюоресцентный анализ оказывается в сотни и тысячи раз чувст-

вительнее спектрофотометрического. Высоким  $\phi$  обладают триптофан в белках, флавины, восстановленные никотинамиддинуклеотиды (НАД · Н и НАДФ · Н), витамины А, В<sub>6</sub>, Е и др., многие лекарственные вещества: хинин, гризеофульвин и др. Легко определяются люминесцентным методом канцерогенные углеводороды (3,4-бензпирен, дибензантрацен) в воздухе городов, дыме сигарет и т. д. При возбуждении ближним ультрафиолетом (365 нм) легко обнаруживаются грибковые инфекции волос по характерной желто-зеленой флюоресценции, дерматомикозы у животных; яйца, зараженные бактериями рода *Pseudomonas*, легко обнаруживаются по ярко-зеленой флюоресценции пигмента пиовердина, видимой даже через скорлупу.

Ярко флюоресцирующие соединения применяют в диагностике. Например, в вену человека вводят раствор флюоресцеина и через несколько секунд наблюдают яркую, возбуждаемую ультрафиолетом зеленую люминесценцию губ и глаз. Этим методом определяют время циркуляции крови и области тела с пониженным кровообращением.

Некоторые соединения, не обладающие собственной флюоресценцией, после химической обработки дают продукты с высоким  $\phi$ . Этим методом определяют морфин, героин и другие наркотики (до 0,02 мкг в пробе), витамины С, D, В<sub>12</sub> и др.

Ценную информацию о молекулярной организации биообъектов и патологических изменениях в тканях, клетках и субклеточных частицах можно получить, измеряя поляризацию люминесценции. При освещении объекта поляризованным светом люминесценция оказывается тоже поляризованной. *Степень поляризации флюоресценции (P)* — доля поляризованного света флюоресценции в общей суммарной интенсивности флюоресценции. Если за время жизни возбужденного состояния молекула не успевает повернуться (например, находится в замороженном растворе), то она испустит квант флюоресценции, поляризованный точно так же, как поглощенный квант. Степень поляризации при этом будет максимальной ( $P_0$ ). В жидких растворах, однако, за время  $\tau$  ориентация молекул успевает измениться и происходит деполяризация. Молекула поворачивается тем быстрее (и тем больше деполяризация), чем меньше вязкость ( $\eta$ ) ее ближайшего окружения. Связь между  $P$  и  $\eta$  установлена Перреном и Яблонским:

$$\frac{1}{P} - \frac{1}{3} = \left( \frac{1}{P_0} - \frac{1}{3} \right) \cdot \left( 1 + \frac{R \cdot T}{V \cdot \eta} \cdot \tau \right) \quad (2.12)$$

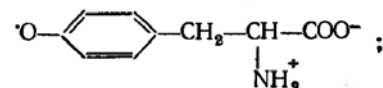
где  $R$  — газовая постоянная,  $T$  — температура (К),  $V$  — объем моля флюоресцирующих молекул.

Поляризацию флюоресценции определяют, чтобы изучать микровязкость структур клетки. Если в мембранную систему поместить флюоресцентный зонд, например 4-диметиламинохалкон, 3-метоксибензантрон или 1-анилинонафталин-8-сульфонат, то он, как гидрофобная молекула, окажется внутри мембраны. Измерив  $P$  для такого зонда, можно определять микровязкость мембраны (см. главу 5).

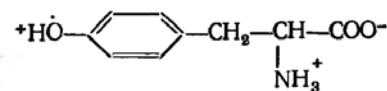
## 2.4. СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ

Все стабильные молекулы на каждом электронном энергетическом уровне имеют по два электрона с противоположно направленными спинами. В определенных условиях может происходить либо отрыв одного электрона, либо присоединение одного электрона к молекуле. *Свободным радикалом называется молекула или ее часть, имеющая неспаренный электрон.*

Свободный радикал обозначают жирной точкой над соответствующей группой химического соединения или над условным обозначением этого вещества, например: нейтральный радикал тирозина —



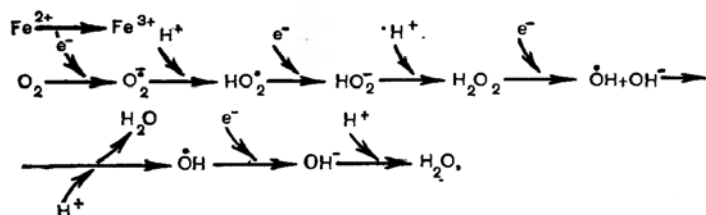
супероксиданионрадикал  $-\text{O}_2^-$ ; катион радикал тирозина:



С точки зрения химии появление неспаренного электрона есть не что иное, как появление у молекулы свободной валентности; такие молекулы легко вступают в химические реакции, поэтому для свободных радикалов характерна высокая реакционная способность. Другими их особенностями являются парамагнетизм (так как они имеют нескомпенсированные магнитные моменты неспаренных электронов) и способность вести цепные реакции.

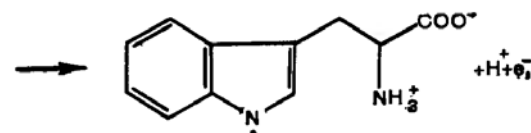
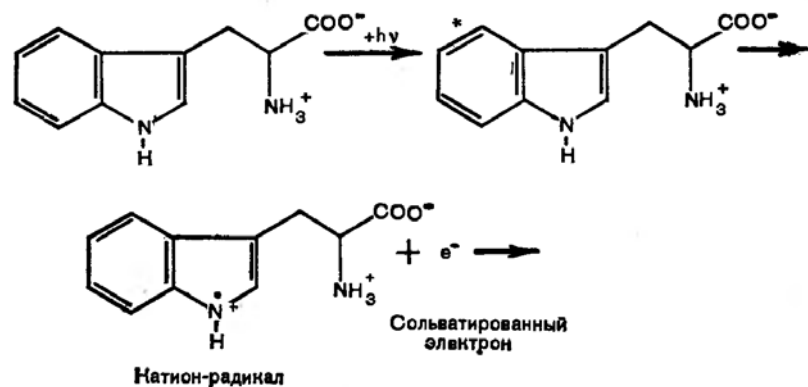
В биологических системах различают несколько типов свободных радикалов.

*Свободные радикалы воды.* При протекании в клетке некоторых окислительных реакций, например при окислении  $Fe^{2+}$  в  $Fe^{3+}$ , электрон может присоединиться к молекулярному кислороду. В результате образуется радикал  $O_2^-$  (супероксид), способный вступать в цепочку дальнейших превращений в результате последовательных присоединений электронов (если есть доноры) и протонов (в водной среде):

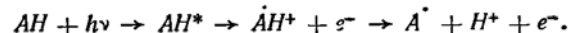


где  $HO_2^{\cdot}$  — гидроперекисный радикал;  $H_2O_2$  — перекись водорода;  $\cdot OH$  — гидроксильный радикал, обладающий очень высокой реакционной способностью;  $OH^-$  — ион гидроксила.

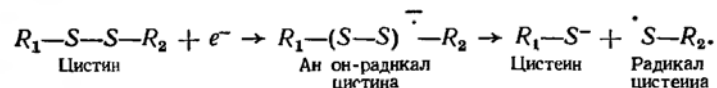
*Свободные радикалы органических молекул, образующиеся при действии ионизирующей и УФ-радиации.* Например, при действии ионизирующей или УФ-радиации происходит образование свободных радикалов ароматических и серусодержащих белков и пиримидиновых оснований нуклеиновых кислот. Для триптофана схема реакций имеет вид:



или в краткой форме записи:



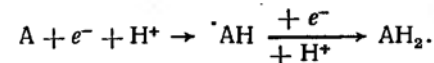
Образующийся в первый момент катион-радикал является сильной кислотой, поэтому он легко диссоциирует с образованием нейтрального радикала  $A^{\cdot}$ . Сольватированный (т. е. окруженный молекулами растворителя) электрон также является частицей с очень высокой реакционной способностью и может вступать в химические реакции. Например,  $e^-$  охотно реагирует с цистином белков, что приводит к разрыву дисульфидного мостика в белке и появлению свободного радикала цистеина:



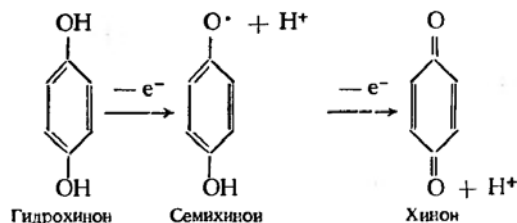
Все эти свободные радикалы играют важную роль в возникновении радиационных повреждений тканей и при УФ-ожогах. Сольватированные электроны могут, взаимодействуя с  $O_2$ , вызывать появление супероксидрадикала со всеми описанными выше последствиями.

Методом ЭПР (см. ниже) показано образование свободных радикалов тимина при действии УФ-света на нуклеиновые кислоты. Такие свободные радикалы играют важную роль при образовании ковалентных сшивок в ДНК и между ДНК и белками.

*Свободные радикалы хинонов.* Еще в 1939 г. Михаэлис предположил, что в биологических окислительно-восстановительных реакциях происходит переход двух электронов, но эта передача происходит в два этапа, с образованием радикалов в качестве промежуточной формы между окисленным и восстановленным состоянием вещества:



Такие процессы сейчас действительно обнаружены в цепях биологического окисления и протекают аналогично окислению гидрохинонов до хинонов через промежуточную радикальную форму, названную Михаэлисом семихинонами:



Радикалы этого типа принимают участие в переносе электронов в дыхательной цепи митохондрий (радикалы флавинов и коэнзима Q). Такие же радикалы образуются при взаимодействии фенольных антиоксидантов со свободными радикалами липидов (см. ниже).

**Свободные радикалы липидов.** Одним из основных структурных элементов биологических мембран являются фосфолипиды. В состав молекулы фосфолипида входят ненасыщенные жирные кислоты, которые могут в некоторых условиях окисляться по цепному свободнорадикальному механизму. Особенность цепных реакций состоит в том, что свободные радикалы, реагируя с другими молекулами, не исчезают, а превращаются в другие свободные радикалы (рис. 10). Последствия окисления фосфолипидов — это в первую очередь нарушение барьерных функций биомембран для ионов и других молекул. Как сейчас установлено, свободнорадикальное окисление липидов играет ведущую роль в развитии УФ-эритемы кожи, световых ожогов глаз, радиационных повреждений, отравлений четыреххлористым углеродом и других патологических состояний организмов.

На рис. 10 дана схема свободнорадикальных реакций окисления ненасыщенных липидов. Свободнорадикальное окисление липидов начинается с реакции инициирования (0). Инициатором могут служить свободные радикалы, например аминокислот, свободные радикалы воды и др. Затем идут реакции продолжения цепи (1 и 2). Далее следуют реакции разветвления (3), когда гидроперекиси разлагаются, иницируя новые цепи. Разветвление происходит в присутствии ионов двухвалентного железа, под действием УФ-излучения или значительно реже спонтанно. Не все радикалы  $RO_2^{\cdot}$  и  $R^{\cdot}$  продолжают цепь, часть их рекомбинирует друг с другом, давая неактивные продукты (4, 5 и 6). Помимо таких реакций спонтанного обрыва цепей, цепи прерываются антиоксидантами АН, самым распространенным из которых является витамин Е.

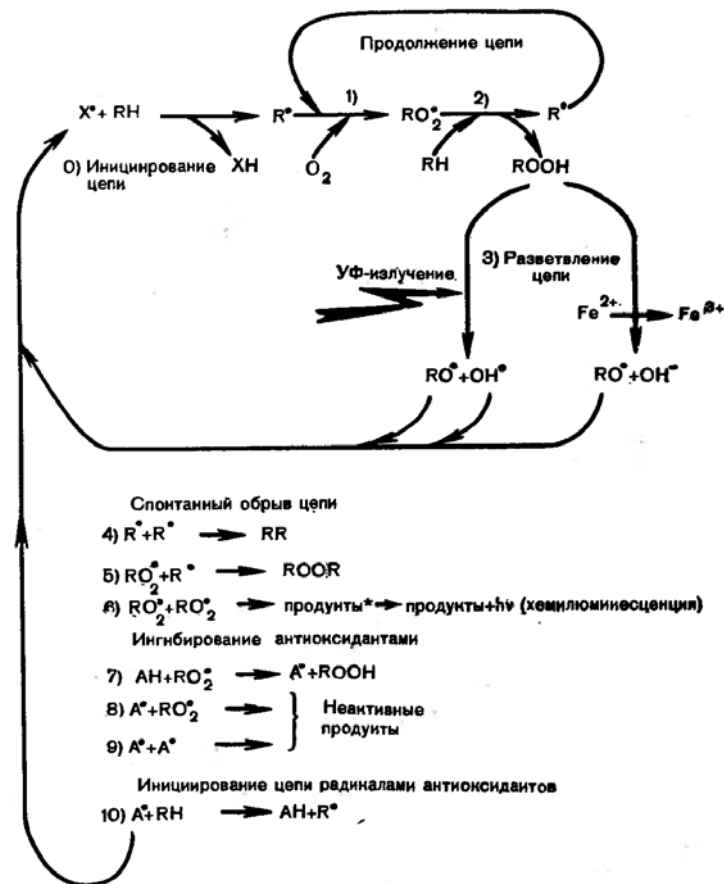


Рис. 10. Схема цепного свободнорадикального окисления ненасыщенных липидов.

RH — ненасыщенный липид, например, линолевая кислота;  $R^{\cdot}$  — нейтральный радикал липида;  $RO_2^{\cdot}$  — перекисный радикал; ROOH — гидроперекись;  $OH^{\cdot}$  — гидроксильный радикал; АН — антиоксидант, например, витамин Е или инол;  $A^{\cdot}$  — радикал антиоксиданта.

При этом образуются малоактивные радикалы витамина Е. Наиболее активен витамин Е в относительно низких концентрациях (in vitro около  $10^{-6}$  M), при повышении его концентрации антиоксидантная эффективность снижается. Это объясняется увеличением роли реакции (10), которая при низких концентрациях витамина Е не дает существенного вклада в реакцию инициирования новых цепей.





напряженности внешнего магнитного поля (см. рис. 11, В). Для качественного анализа свободных радикалов учитывают следующие параметры спектров ЭПР: ширину полосы ( $\Delta H$ ), ее положение ( $g$ -фактор) и наличие сверхтонкой структуры спектра (СТС). СТС возникает в результате наложения на внешнее магнитное поле локальных магнитных полей, создаваемых некоторыми ядрами атомов молекулы. В органических радикалах такими ядрами являются, как правило, протоны, ближайšie к месту локализации неспаренного электрона. На рис. 11 представлены спектры ЭПР, когда неспаренный электрон находится одновременно под влиянием магнитных полей трех эквивалентных протонов, создающих СТС. Суммарное магнитное поле, действующее на неспаренный электрон в случае влияния одного протона, будет расщеплять каждый энергетический уровень на два подуровня. В спектре ЭПР будут наблюдаться уже не одна, а две полосы поглощения. Если влияют два эквивалентных протона, то полос будет три, а если протонов три, то полос четыре.

Преимуществом метода ЭПР является возможность идентифицировать свободные радикалы и определять их концентрацию. Однако по чувствительности он уступает другому физическому методу — хемилюминесценции, который основан на регистрации свечения, сопровождающего химические реакции. Первые указания на существование хемилюминесценции появились в работах А. Г. Гурвича (1934), в которых он сообщал об обнаружении им УФ-излучения, испускаемого растительными и животными клетками. В 1954 г. итальянские ученые Коли и Фачини измерили сверхслабое свечение живых проростков разных растений. Затем Ю. А. Владимиров и Ф. Ф. Литвин (1959) и Б. Н. Тарусов, А. И. Журавлев и А. И. Поливода (1961) изучали сверхслабое свечение различных животных и растительных объектов, применив в качестве особо чувствительного прибора счетчик фотонов, созданный на основе фотоумножителя, охлажденного жидким азотом. Н. М. Эмануэлем, В. Я. Шляпинтохом, Р. Ф. Васильевым и О. Н. Карпухиным была выяснена схема цепных свободнорадикальных реакций перекисного окисления углеводов, сопровождающихся хемилюминесценцией. В дальнейшем было показано, что в биологических системах за испускание квантов хемилюминесценции ответственна реакция рекомбинации перекисных свободных радикалов липидов  $RO_2$  (реакция 6 на рис. 10).

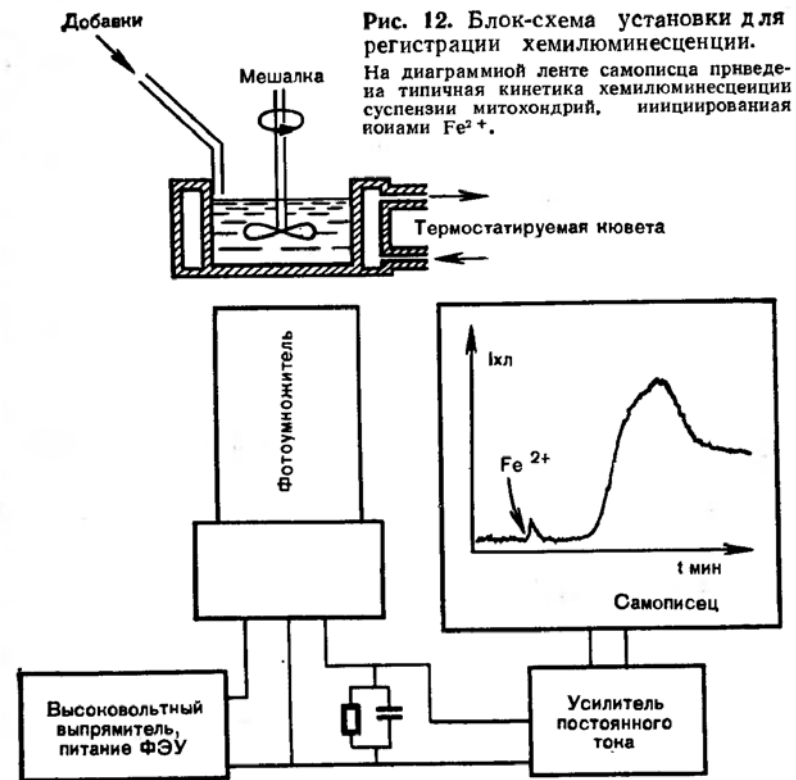


Рис. 12. Блок-схема установки для регистрации хемилюминесценции.

На диаграммной ленте самописца приведена типичная кинетика хемилюминесценции суспензии митохондрий, инициированная ионами  $Fe^{2+}$ .

Схема прибора для регистрации хемилюминесценции приведена на рис. 12. Измеряемая на хемилюминометре интенсивность хемилюминесценции ( $I_{хл}$ ) равна скорости образования возбужденных продуктов ( $dP^*/dt$ ), умноженной на квантовый выход их люминесценции ( $\varphi$ ). В стационарных условиях протекания реакции скорость образования  $P^*$  равна скорости их исчезновения в реакции 6 (см. рис.10), а следовательно:

$$I_{хл} = \varphi \cdot \left( \frac{dP^*}{dt} \right) = \varphi \cdot k_6 \cdot [RO_2^*]^2 \quad (2.14)$$

Концентрация  $RO_2$  тем выше, чем быстрее идет процесс окисления, таким образом интенсивность хемилюминесценции дает информацию о скорости окисления.

Расчет показывает, что на хемилюминесцентной установке можно обнаружить примерно  $10^{-10}$  М  $RO_2$ -радика-

лов, т. е. чувствительность этого метода примерно в 100 раз выше чувствительности метода ЭПР. Современная аппаратура позволяет регистрировать спонтанное свечение гомогенатов печени, суспензии митохондрий, дрожжей, искусственных липидных мембран, свидетельствующее о протекании в этих объектах свободнорадикальных реакций окисления липидов.

Интенсивность хемиллюминесценции резко возрастает при добавлении к исследуемому раствору или суспензии биологических частиц катализаторов, например соли двухвалентного железа (за счет разветвления цепи по реакции 3 на рис. 10). На рис. 12 показана кинетика индуцированного  $Fe^{2+}$  свечения суспензии митохондрий. Регистрация хемиллюминесценции полезна в диагностике. Например, интенсивность индуцированного  $Fe^{2+}$  свечения плазмы крови при гнойном аппендиците значительно слабее, чем при холецистите, и по этому критерию можно с большой достоверностью (до 90%) дифференциально диагностировать эти два заболевания.

#### 2.6. ПЕРВИЧНЫЕ СТАДИИ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

К фотобиологическим относятся процессы, начинающиеся с поглощения света одним из биологически важных соединений и заканчивающиеся определенной физиологической реакцией организма. Различают негативные (вредные) и позитивные (полезные) фотобиологические процессы.

Негативные фотобиологические эффекты в организмах человека и животных делят на два типа: фототоксические и фотоаллергические.

*Фототоксическими эффектами* называют световые повреждения кожи или глаз, не сопровождающиеся аллергическими реакциями. Клинически они проявляются в форме эритемы, отеки, пигментации, помутнения хрусталика и т. д.

*Фотоаллергические эффекты* включают в себя первичный иммунологический механизм аллергической сенсибилизации.

К позитивным фотобиологическим эффектам у животных организмов относятся:

*зрение,*

*фотопериодизм* — регуляция суточных и годовых циклов жизни животных путем циклических воздействий

свет: темнота. Процесс осуществляется под действием видимого света. У человека и млекопитающих фотопериодическим рецептором являются глаза, у некоторых птиц — гипоталамус, у рыб — эпифиз, у насекомых — мозг.

*Образование витамина D* из провитаминов, происходящее под действием УФ-света.

У растений важнейшими фотобиологическими процессами являются фотосинтез, фототаксис, фототропизм, фотопериодизм.

Хотя фотобиологические процессы очень разнообразны, но любой из них можно разбить на ряд стадий:

1. Поглощение кванта света.
2. Внутримолекулярные процессы размена энергии.
3. Межмолекулярный перенос энергии возбужденного состояния (миграция энергии).
4. Первичный фотохимический акт.
5. Темновые превращения первичных фотохимических продуктов, заканчивающиеся образованием стабильных продуктов.
6. Биохимические реакции с участием фотопродуктов.
7. Общефизиологический ответ на действие света.

Биофизики занимаются изучением только первых четырех процессов и частично — темновых процессов, непосредственно следующих за первичным фотохимическим актом. Более поздние стадии: метаболизм фотопродуктов и их физиологическое действие — предмет исследования биохимиков, физиологов и медиков.

На рис. 13 представлены спектры излучения солнца у поверхности земли и некоторых искусственных источников, применяемых в клинике. По характеру биологического действия на организм человека и животных весь спектральный диапазон принято разбивать на несколько участков, каждый из которых ответственен за индукцию определенных эффектов.

Ифракрасная область (длины волн более 750 нм): тепловые эффекты.

Видимая область (400—750 нм): зрение, фотопериодизм.

Ультрафиолетовая область (200—400 нм): ее в свою очередь разбивают на три участка.

УФ-А (315—400 нм): загар, синтез витамина D из провитаминов, фотоаллергические и сенсибилизированные фототоксические эффекты.

УФ-В (280—315 нм): эритема, отек, загар, ожог глаз, канцерогенез, синтез витамина D.

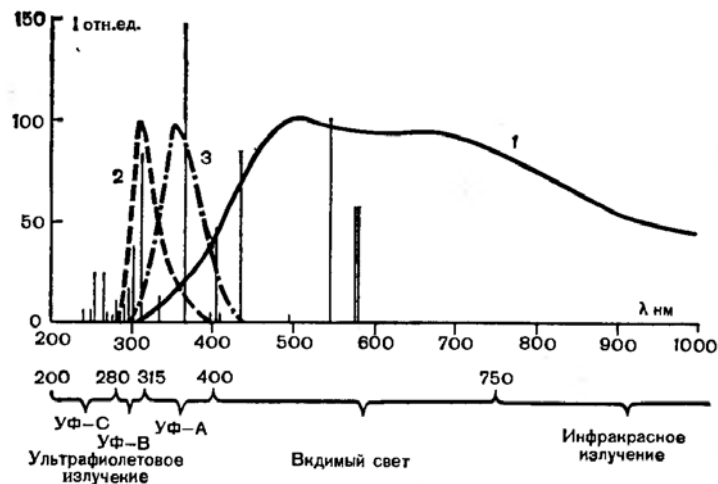


Рис. 13. Спектральное распределение излучения.  
1 — солнца, достигающего поверхности земли (коротковолновая граница 285 нм); 2 — эритемной люминесцентной лампы типа ЭУВ; 3 — загарной люминесцентной лампы типа ЗУВ; линейчатый спектр газоразрядной ртутно-кварцевой лампы ПРК-2.

УФ-С (200—280 нм): эритема, загар, канцерогенез, мутации, бактерицидный эффект.

Один из важнейших методических приемов при изучении первичных стадий фотобиологических процессов — измерение спектров фотобиологического действия.

## 2.7. СПЕКТРЫ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Спектр фотобиологического действия называется зависимостью фотобиологического эффекта от длины волны действующего света. Спектры действия позволяют не только выяснить, какая область спектра наиболее эффективно вызывает данный фотобиологический процесс, но и какое вещество является акцептором квантов света в данном биологическом процессе.

Количественной характеристикой эффективности действующего света в самом простом случае может служить величина, называемая поперечным сечением фотохимической реакции ( $\sigma$ ). Чтобы понять, как можно найти эту величину, рассмотрим кинетику наиболее простого фотохимического процесса — УФ-инактивации фермента.

Пусть в кювете находится разбавленный раствор фермента в концентрации  $n$  молекул  $\cdot$   $\text{см}^{-3}$ ;  $l$  — толщина кюветы, см;  $s$  [ $\text{см}^2$ ] — поперечное сечение поглощения фермента (см. уравнение 2.2);  $I_0$  и  $I$  (кванты  $\cdot$   $\text{см}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ) — интенсивности падающего и прошедшего через раствор света. Каждую секунду раствор будет поглощать  $(I_0 - I)$  квантов  $\cdot$   $\text{см}^{-2}$ , при этом в слое раствора толщиной  $l$  см и площадью  $1 \text{ см}^2$  разрушается  $-l \cdot dn/dt = \varphi_x \cdot (I_0 - I)$  молекул, где  $\varphi_x$  — квантовый выход фотохимической реакции. Между  $I_0$ ,  $I$ ,  $s$  и  $l$  существует соотношение, аналогичное закону Бугера — Ламберта — Бера (2.1):

$$\frac{I}{I_0} = e^{-s \cdot n \cdot l} \quad (2.15)$$

Из последних двух уравнений находим

$$-l \cdot \frac{dn}{dt} = \varphi_x \cdot I_0 \cdot (1 - e^{-s \cdot n \cdot l}) \quad (2.16)$$

В разбавленных растворах, где  $s \cdot n \cdot l \leq 0,1$  выражение в скобках приблизительно равно  $s \cdot n \cdot l$  (погрешность  $\leq 5\%$ ). Тогда можно написать, что

$$-\frac{dn}{dt} = \varphi_x \cdot I_0 \cdot s \cdot n \quad (2.17)$$

Интегрирование выражения 2.17 дает:

$$\ln \frac{n_0}{n_t} = I_0 \cdot t \cdot s \cdot \varphi_x = D \cdot \sigma \quad (2.18)$$

где  $I_0 \cdot t = D$  — доза облучения, а произведение  $s \cdot \varphi_x = \sigma$  — поперечное сечение инактивации фермента.

Для определения  $\sigma$  строят график зависимости  $\ln n_0/n_t = f(D)$  (рис. 14), величина  $\sigma$  определяет наклон прямой. Поскольку при  $n_0/n_t = e$ ,  $\ln n_0/n_t = 1$ , можно найти  $\sigma$  непосредственно из дозовой кривой инактивации:  $\sigma = 1/D_{37\%}$ , где  $D_{37\%}$  — доза облучения, при которой осталось неразрушенными 37% молекул (см. рис. 14).

В фотохимии спектром действия называется зависимость  $\sigma$  от длины волны действующего света (рис. 15, кривая 1).

Важный закон фотохимии, который был экспериментально подтвержден в работах О. Варбурга и сотрудников, изучавших действие света на белковые системы, заклю-

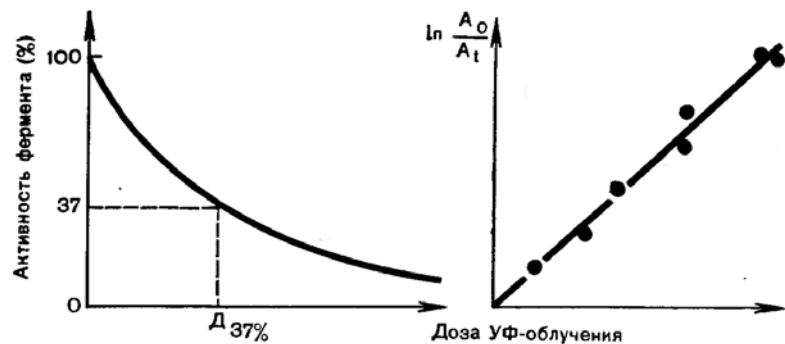


Рис. 14. Дозовая зависимость инактивации фермента.  $A_0$ ,  $A_t$  — активности фермента до и после облучения дозой  $D_t$  (соответственно).

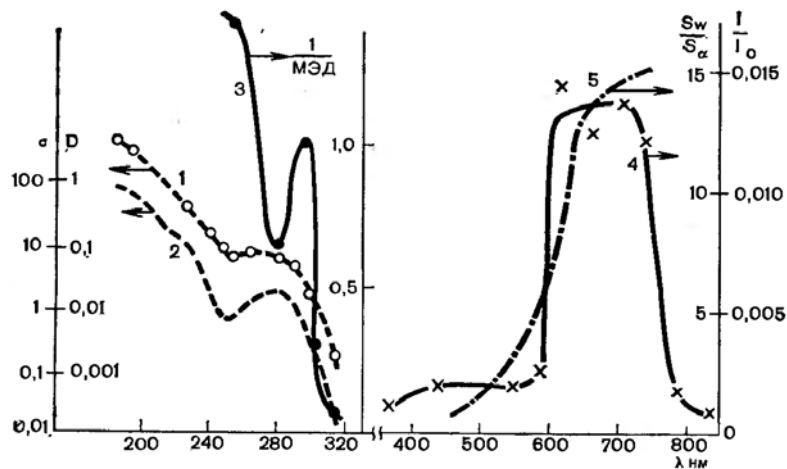


Рис. 15. Спектры действия фотобиологических процессов. 1 — спектр действия инактивации и 2 — спектр поглощения трипсина ( $\sigma$  — поперечное сечение инактивации,  $D$  — оптическая плотность). 3 — спектр действия УФ-эритемы человека. 4 — спектр действия фотопериодической стимуляции полового созревания утят ( $S_w/S_c$  — отношение размеров семенников в конце и начале опыта), 5 — спектр пропускания ( $I/I_0$ ) тканей головы утят со стороны глазных орбиталей до гипоталамуса.

чается в том, что *квантовый выход фотохимических реакций в растворах не зависит от длины волны действующего света*. Физический смысл этого закона аналогичен закону Вавилова в люминесценции (см. с. 37): в фотохимическую

реакцию вступают молекулы, находящиеся на самом нижнем уровне возбужденного состояния. Следствие этого закона состоит в том, что поскольку  $\sigma = s \cdot \Phi_x$  спектр действия  $\sigma(\lambda)$  по форме соответствует для индивидуального вещества спектру его поглощения  $s(\lambda)$ . Измерив по дозовым кривым спектру действия в сложной биологической системе, мы можем определить спектр поглощения фотолизируемого вещества, не проводя никаких спектрофотометрических измерений. Именно это и обуславливает интерес к регистрации спектров действия в фотобиологии: мы узнаем, фотолиз какого компонента сложной системы ответственен за конечный фотобиологический эффект.

Сравнительно простой случай — определение спектров действия фотоинактивации белков. На рис. 15 (кривая 1) представлен спектр действия фотоинактивации трипсина. В трипсине есть три главных хромофора: остатки триптофана, тирозина и цистина, которые и обуславливают спектр его поглощения. Как видно из спектра действия, для инактивации белка существенен фотолиз всех трех перечисленных аминокислот, так как спектр действия близок суммарному спектру поглощения этих аминокислот (рис. 15, кривая 2).

Точно так же было установлено, что кривая гибели бактерий под действием ультрафиолета имеет максимум в области 265 нм и что форма этой кривой очень напоминает спектр поглощения нуклеиновых кислот. Поэтому был сделан вывод, что гибель бактерий под действием УФ-излучения связана с повреждением нуклеиновых кислот. Аналогичное наблюдение было сделано при изучении мутагенного действия ультрафиолета.

В случае сложных фотобиологических процессов, когда конечному эффекту предшествуют частично обратимые фотохимические процессы и темновые стадии, уравнение кинетики 2.18 может не соблюдаться, и неясно, как определить  $\sigma$  для построения спектра действия. Обычно в этом случае по ординате откладывают величину «эффективности света»  $\mathcal{E}$ , обратную дозе  $D_c$ , вызывающей какой-то определенный фотобиологический эффект, одинаковый для всех длин волн:  $\mathcal{E} = 1/D_c$ . В спектрах действия эритемы по ординате откладывают величину «эритемной эффективности»  $1/\text{МЭД}$ , где МЭД — минимальная эритемная доза, т. е. доза облучения, вызывающая минимальную обнаруживаемую эритему (рис. 15, кривая 3). Подобная же величина откладывается на спектрах действия загара человека,

фототропизма и фототаксиса растений, чувствительности глаза и т. д.

При изучении спектров действия в сложных биологических системах может искажаться описанная выше сравнительно простая картина за счет *эффектов экранировки*. Суть экранирующего эффекта заключается в том, что часть падающего на объект света поглощается в верхних слоях этого объекта. И в его глубине интенсивность действующего света оказывается ниже по сравнению с падающим светом  $I_0$ , интенсивность которого мы знаем. Примером могут служить фотобиологические процессы, протекающие в коже человека и животных. До хромофоров в клетках доходит свет, ослабленный поверхностными слоями кожи (например, роговым слоем), т. е. имеет место оптическое экранирование, которое будет искажать регистрируемый спектр действия эритемы.

На рис. 15 (кривая 4) изображен спектр действия фотопериодической стимуляции полового созревания утят. Здесь экранировка проявляется особенно сильно, так как фоторецептором является гипоталамус и свет должен дойти до него через ткани головы. Знание спектра действия в данном фотобиологическом процессе позволяет дать практические рекомендации по режиму освещения.

Когда природа акцептора квантов в исследуемом фотобиологическом процессе установлена, становится возможным выяснить, какие именно фотохимические реакции происходят в этом рецепторе.

## 2.8. ИЗУЧЕНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРВИЧНЫХ ФОТОБИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИИ

Первичные продукты фотохимических реакций — молекулы в электронно-возбужденном состоянии и свободные радикалы — крайне неустойчивы и быстро переходят либо в исходные вещества, либо в более устойчивые фотопродукты (новые молекулы). Упрощенно это можно представить в виде превращения вещества А в В по схеме:



где  $A'$  — первичный фотопродукт, а  $k_1$ ,  $k_2$  и  $k_3$  — константы скоростей соответствующих мономолекулярных реакций. Накопление продукта  $A'$  во времени описывается

обычным для таких систем кинетическим дифференциальным уравнением:

$$\frac{d[A']}{dt} = k_1 \cdot [A] - (k_2 + k_3) \cdot [A']. \quad (2.20)$$

В стационарных условиях  $d[A']/dt = 0$ , откуда

$$\frac{[A']}{[A]} = \frac{k_1}{k_2 + k_3}. \quad (2.21)$$

Скорость образования  $A'$  может быть представлена в следующем виде (сравни 2.17 и 2.18):

$$\left(\frac{d[A']}{dt}\right)_{\text{обп}} = k_1 \cdot [A] = \varphi_x \cdot I_0 \cdot s \cdot [A] = I_0 \cdot \sigma, \quad (2.22)$$

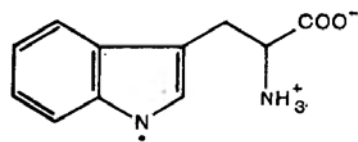
откуда

$$[A']/[A] = I_0 \cdot \sigma / (k_2 + k_3). \quad (2.23)$$

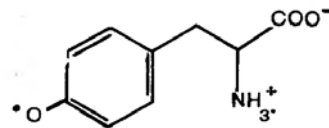
Очевидно, что увеличить относительную концентрацию неустойчивого фотопродукта  $A'$  можно двумя способами: либо надо увеличить интенсивность действующего света  $I_0$ , либо замедлить скорость темновых процессов (снизить  $k_2$  и  $k_3$ ). Оба эти приема широко используются в фотохимии и фотобиологии для изучения спектральных свойств и времени жизни первичных фотопродуктов. Первый способ реализуется путем использования мощного импульсного освещения образцов (*метод импульсного фотолиза*), второй — путем *глубокого замораживания образцов жидким азотом*, в результате которого практически прекращаются или по крайней мере резко замедляются все темновые реакции, тогда как фотохимическое образование первичных продуктов продолжается с прежней скоростью, как и при плюсовых температурах.

Метод фотслиза при низких температурах использовался, например, при изучении первичных фотохимических процессов в белках. Измерение спектров действия показало, что фотоинактивация белков-ферментов связана с фотслизом аминокислот триптсфана, тирозина и цистина (в некоторых случаях также фенилаланина и цистина). Последующее использование низкотемпературной техники и импульсного фотолиза позволило изучить механизм первичных фотохимических реакций в ароматических и серусодержащих аминокислотах. Если заморо-

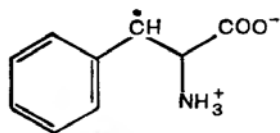
зить и охладить до температуры жидкого азота щелочной раствор триптофана или тирозина, то при УФ-облучении образец приобретает сине-фиолетовую окраску: возникает максимум поглощения около 600 нм. За это поглощение ответственен сольватированный электрон  $e^-$ , т. е. электрон, выбитый из молекул аминокислот в результате реакции фотоионизации и захваченный в матрице растворителя. Его можно обнаружить не только по поглощению, но и методом ЭПР, так как сольватированный электрон обладает нескомпенсированным спином. Параллельно накоплению  $e^-$  происходит фотолиз триптофана и тирозина, разобранный в разделе 2.4 и на рис. 15 и 16. Измеряя спектры флюоресценции, возбуждения флюоресценции и ЭПР таких замороженных и облученных образцов, удалось выяснить химическое строение нейтральных радикалов ароматических аминокислот ( $A\cdot$ ) (Ю. А. Владимиров и Д. И. Рошупкин):



Радиал триптофана



Радиал тирозина



Радиал фенилаланина

Метод импульсного фотолиза основан на освещении образца очень яркой вспышкой, при которой в возбужденное состояние переходит одновременно значительная доля молекул исследуемого вещества. Как следствие этого сразу после вспышки лабильные фотопродукты образуются в достаточно высоких концентрациях, позволяющих проводить их спектральное определение, но уже через несколько сотен микросекунд они вновь исчезают.

Метод импульсного фотолиза позволяет обнаружить такие фотопродукты, как молекулы в триплетном возбужденном состоянии и свободные радикалы биомолекул.

**Анализ с помощью ингибиторов.** Ионол, витамин Е и другие соединения, имеющие низкий потенциал ионизации, легко отдают электрон свободным радикалам, тем самым ингибируя свободнорадикальные реакции.

Цистеин, цистин,  $KNO_3$ ,  $NO$  имеют высокое сродство к электрону и поэтому эффективно ингибируют реакции с участием сольватированных электронов, захватывая последние.

Парамагнитные ионы ( $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  и др.) тушат триплетные возбужденные состояния, тогда как непарамагнитные ( $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  и др.) этим свойством не обладают.

Если в ходе фотохимической реакции образуется *синглетный* возбужденный кислород  $^1O_2$  (см. ниже), то реакции с участием  $^1O_2$  лучше всего ингибировать добавлением  $\beta$ -каротина.

Таким образом, изучив влияние на данный фотобиологический процесс различных ингибиторов, можно выяснить природу существенных для его инициирования лабильных фотопродуктов.

## 2.9. ПЕРВИЧНЫЕ ФОТОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ БЕЛКОВ, ЛИПИДОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Белки, нуклеиновые кислоты и липиды являются основными компонентами всех живых существ, поэтому их фотохимические превращения изучались очень интенсивно.

Фотохимические превращения белков рассматривались в разделах 2.2, на рис. 15. Здесь приведем итоговую схему фотореакций, приводящих к инактивации ферментов (рис. 16).

Процессы свободнорадикального окисления липидов рассматривались в разделе 2.4. Эти процессы могут инициироваться под действием УФВ-излучения солнечного спектра, поэтому представляют значительный интерес для медицины. Процесс *фотоокисления липидов* играет важную роль в развитии УФВ-эритемы. Этот вывод основан на двух фактах. Во-первых, нанесение на кожу антиоксидантов (витамина Е или ионола) уменьшает степень покраснения и увеличивает МЭД. Во-вторых, нанесение на кожу ненасыщенных липидов резко повышает эритемную чувствительность кожи (Д. И. Рошупкин и соавт.).

Под действием УФ-света происходит несколько фотохимических реакций повреждения нуклеиновых кислот.

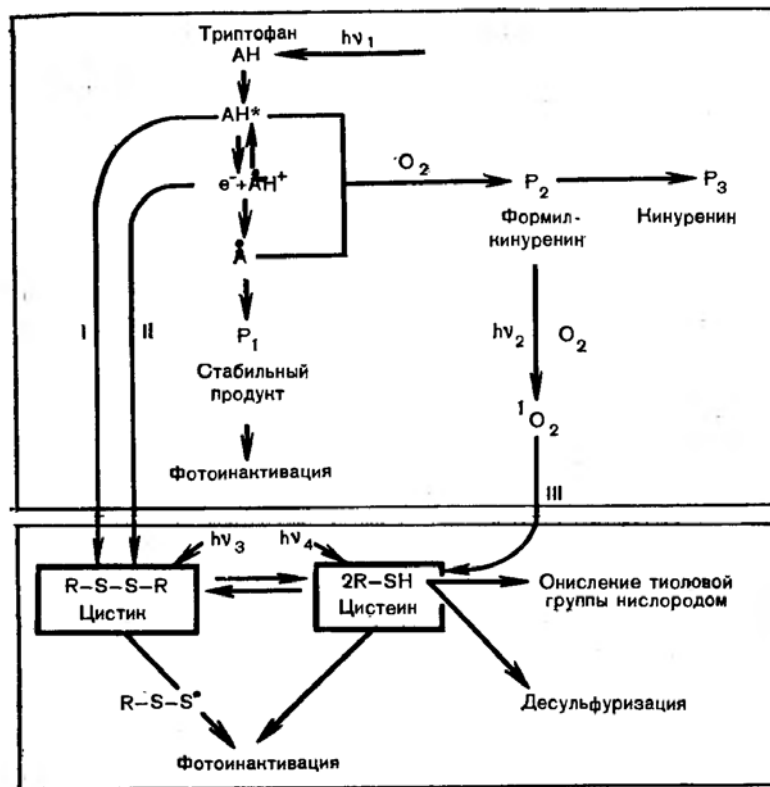


Рис. 16. Фотопревращения аминокислотных остатков белков при УФ-облучении.

I—III — пути фотосенсибилизированного триптофаном разрушения остатков серосодержащих аминокислот; остальные обозначения в тексте.

Важнейшими из них являются *фотодимеризация* и *фотогидратация* пиримидиновых оснований, а также *образование* ковалентных *сшивок* с белками (рис. 17). Эти повреждения являются причиной летальных и мутагенных эффектов УФ-излучения в клетках кожи, у микроорганизмов и растений.

## 2.10. ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫЕ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

В медицине большое значение имеют фотобиологические процессы, возникающие в результате поглощения

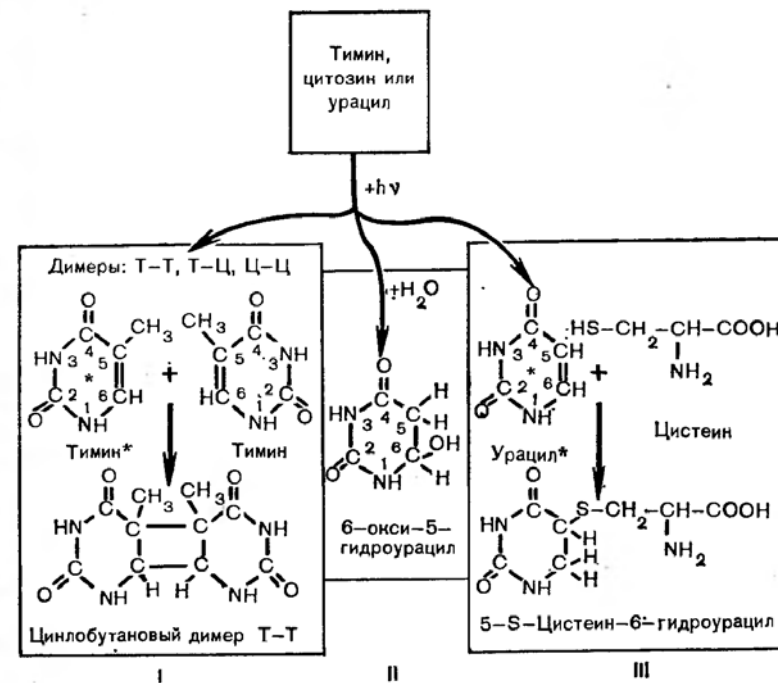


Рис. 17. Фотохимическое повреждение нуклеиновых кислот.

Звездочками обозначена электронно-возбужденная молекула; I — фотодимеризация; II — фотогидратация; III — сшивки с белками.

света экзогенными веществами или эндогенными соединениями, концентрация которых резко возрастает при некоторых патологиях (протопорфирии, билирубинемии и др.). Вещества, повышающие чувствительность организма к ультрафиолетовому или видимому свету, в фотобиологии называются *фотосенсибилизаторами*. А в медицине часто используют для них термины «фототоксические» и «фотоаллергические» вещества в зависимости от того, какие процессы они индуцируют.

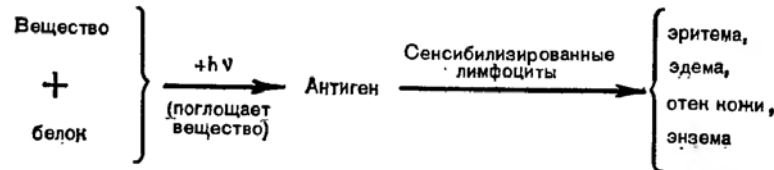
Фотосенсибилизаторы по механизму их действия делятся на два типа.

*Фотосенсибилизаторы I типа* под действием света сами химически изменяются. Характерной особенностью реакций I типа часто является их независимость от присутствия кислорода.

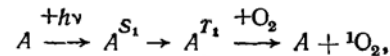
Например, в терапии псориаза широко используются фотосенсибилизаторы I типа, называемые псораленами.

При совместном действии псораленов и УФА-излучения (ПУФА-воздействии) псориаз излечивается. В основе терапевтического эффекта псораленов лежит реакция ковалентного фотоприсоединения псораленов к ДНК, не нуждающаяся в присутствии кислорода.

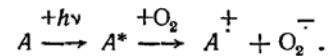
Другим примером сенсibilизаторов I типа являются фотоаллергены. Обычно эти соединения используются как антибактериальные, антигрибковые препараты и транквилизаторы (хлорпромазин, битионол, сульфаниламид, прометазин и др.). Однако они поглощают в УФА-области спектра и при УФ-облучении способны фотохимически присоединяться к белкам; эта реакция приводит к образованию аллергена. Аллерген взаимодействует с макрофагами или Т-лимфоцитами, вызывая их сенсibilизацию. При повторных воздействиях Т-лимфоциты «узнают» аллерген и возникает ответная реакция кожи (уртикария или экзема); часто наблюдается анафилактический шок или астма:



Фотосенсibilизаторы II типа называются также *фотодинамическими соединениями*. Поглотив квант света, эти соединения переходят в триплетное возбужденное состояние ( $A^T_1$ ), а затем взаимодействуют с молекулярным кислородом. При этом кислород может переходить в возбужденное синглетное состояние ( $^1O_2$ ):



в котором он примерно в 100 раз более эффективно, чем невозбужденный кислород, окисляет липиды, белки и другие биомолекулы. В некоторых случаях сенсibilизаторы II типа образуют супероксид-анионрадикал путем переноса на  $O_2$  электрона:



Так или иначе характерной особенностью реакции II типа является их полная зависимость от присутствия кислорода.

Типичный представитель сенсibilизаторов II типа — протопорфирин. Он накапливается в аномально высоких концентрациях в организме человека при некоторых нарушениях биосинтеза порфиринов. Протопорфирин переходит в возбужденное состояние под действием синего света и с высокой эффективностью генерирует  $^1O_2$ . Последний окисляет ненасыщенные липиды, вызывая резкое увеличение ионной проницаемости биомембран. Одновременно инактивируются многие белки (АТФ-аза эритроцитов, ацетилхолинэстераза и др.), происходят полимеризация мембранного белка спектрина и другие явления. Если больные находятся на дневном свету, то у них развивается эритема и эдема. Поэтому по необходимости этим больным приходится находиться на желтом свету, не поглощаемом протопорфирином. После того, как было выяснено, что сенсibilизированная протопорфирином эритема возникает с участием синглетного кислорода, был предложен терапевтический метод, основанный на приеме внутрь  $\beta$ -каротина, способного инактивировать (тушить) синглетный кислород.

К счастью, не все светочувствительные вещества являются фотосенсibilизаторами. Например, билирубин — продукт разрушения гемоглобина, очень фотолabile, но продукты его фотолиза не вызывают заметных фототоксических или фотоаллергических эффектов. Поэтому в родильных домах применяется фототерапия желтухи новорожденных, основанная на разрушении билирубина при освещении новорожденных синим светом. Это бывает необходимо потому, что если у взрослых нормальное содержание билирубина в крови 1 мг%, то у новорожденных — около 20 мг% (в первые дни жизни печень еще не обеспечивает удаление билирубина из крови). Таким образом, путем фотохимического разрушения билирубина устраняются возможные патологические последствия гипербилирубинемии.

### Глава 3

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

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.

Под структурой молекулы понимают расположение в пространстве всех ее 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 и др.

Основная задача молекулярной биофизики — выяснение связи физической структуры и свойств биологически важных молекул с выполняемой ими в организме функцией.

### 3.1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРЫ БИОПОЛИМЕРОВ

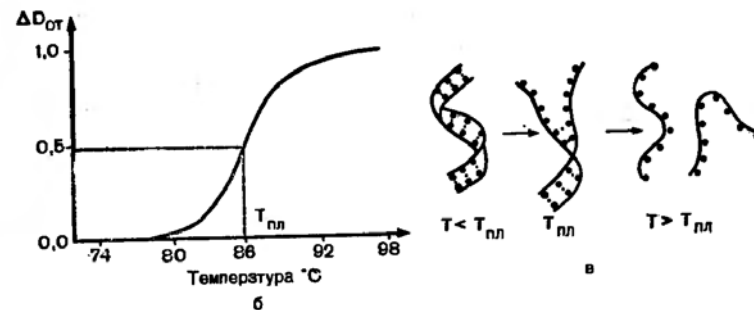
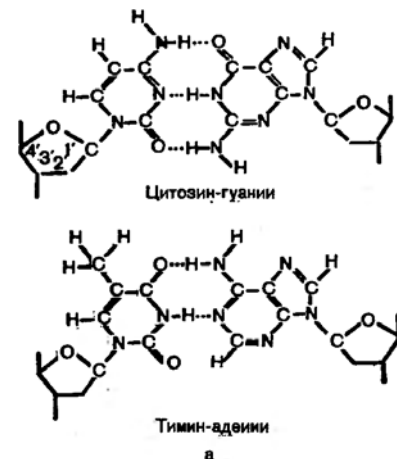
Первая особенность молекул, синтезируемых в живой клетке — их стереоспецифичность (хиральность). Стереоспецифичные молекулы могут существовать в виде двух зеркально симметричных форм — стереоизомеров: правой (*D*-форма) и левой (*L*-форма). Асимметрия существенным образом определяет специфичность биохимических реакций, в частности взаимодействия ферментов с различными метаболитами. Например, протеолитические ферменты животных гидролизуют только полипептиды, построенные из *L*-аминокислот. Оболочки бактерий сибирской язвы имеют в своем составе *D*-глутаминовую кислоту, что является причиной высокой стойкости этих бактерий к действию ферментов. Стереоизомерия может быть также причиной различной фармакологической активности препаратов. Так, по влиянию на двигательную активность мышей *L*-фенамин оказался в 25 раз сильнее, чем *D*-фенамин.

Белки и нуклеиновые кислоты представляют собой информационные макромолекулы, кодирование информации в которых осуществляется соответственно аминокислотным или нуклеотидным алфавитом. Макромолекулы полисахаридов состоят из одинаковых звеньев и поэтому не несут информации. Они выполняют либо опорную функцию (например, целлюлоза в растениях), либо служат в качестве депо необходимых веществ (крахмал в растениях, гликоген в животных) и т. д.

Молекулы белков и нуклеиновых кислот характеризуются строго определенной последовательностью мономеров

Рис. 18. Спаривание оснований ДНК и плавление вторичной структуры.

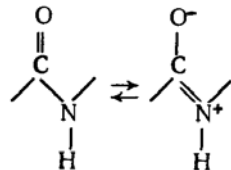
а — образование пар гуанинцитозин и аденинтимин с помощью водородных связей; б — изменение оптической плотности при 260 нм ( $D_{от}$ ) в относительных единицах при плавлении ДНК пневмококка;  $T_{пл}$  — температура плавления; в — плавление двойной спирали. При температуре  $T_{пл}$  скорость разрыва водородных связей выше скорости их образования, что приводит к разделению двух цепей.



(аминокислот, нуклеотидов), связанных ковалентными связями. Число и порядок чередования мономеров в этой последовательности называется *первичной структурой*.

Важная особенность структуры белков и нуклеиновых кислот заключается в стабилизации положения химических групп в пространстве с минимальной внутренней энергией. Это достигается, в частности, за счет образования водородных связей. Регулярное расположение в пространстве химических групп (пептидных в белках, пуриновых и пиримидиновых оснований в нуклеиновых кислотах) создает *вторичную структуру* биополимеров. Вторичная структура ДНК представляет собой двойную спираль, стабилизированную водородными связями между комплементарными азотистыми основаниями образующих спираль цепей (рис. 18).

Как известно из химии, вращение в молекулах вокруг одинарных связей приводит к появлению поворотных изомеров, т. е. молекул с различной конформацией. В белках вращение вокруг пептидной связи C—N затруднено (энергия активации вращения 40—80 кДж/моль), 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  $\alpha$  углерода аминокислот. Угол поворота вокруг связи  $C_\alpha$ —C обозначается  $\psi$ , а вокруг N— $C_\alpha$   $\phi$  (рис. 19).

Полинг и Кори установили два основных варианта вторичной структуры белковой цепи:  $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -форму (рис. 19).  $\alpha$ -Спирали могут быть правозакрученными ( $\phi = 132^\circ$ ,  $\psi = 123^\circ$ ) и левозакрученными ( $\phi = 228^\circ$ ,  $\psi = 237^\circ$ ).  $\beta$ -Формы могут быть параллельными ( $\phi = 61^\circ$  и  $\psi = 239^\circ$ ) и антипараллельными ( $\phi = 380^\circ$  и  $\psi = 325^\circ$ ). Кроме того, в белках встречаются участки, не образующие регулярной структуры, так называемые неупорядоченные структуры, в которых одноименные углы  $\phi$  и  $\psi$  неодинаковы. Например, в гемоглобине 75% аминокислот образуют правозакрученные  $\alpha$ -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 (ионных, гидрофобных, образование дисульфидных и водородных связей) 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 в определенной степени условно, так как в действительности мы имеем дело с единственной пространственной структурой (кон-

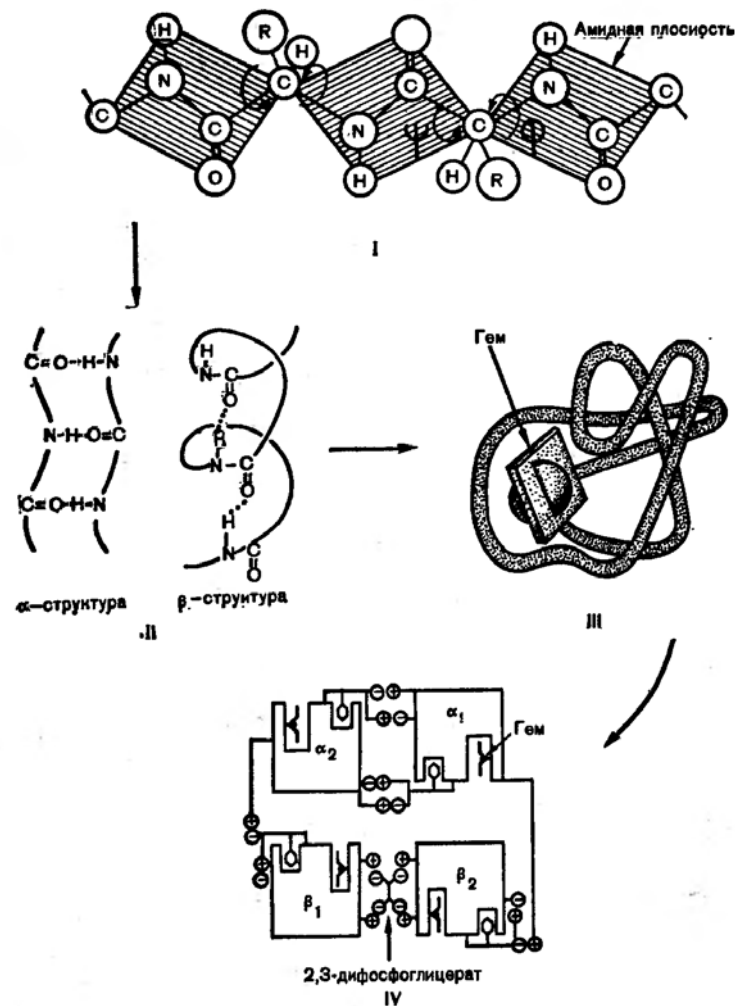


Рис. 19. Структура белковой молекулы.

I — расположение пептидных групп; II — ориентация водородных связей во вторичной структуре белков; III — третичная структура субъединицы гемоглобина; IV — схематическое изображение четвертичной структуры гемоглобина.

формацией) 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 поли-

пептидные 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 в ряде случаев, например при денатурации.

Изменение свойств окружающей среды: температуры, ионного состава, pH, 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. Знание физической природы сил, определяющих стабильную конформацию, позволяет понять действие тех или иных факторов среды (температуры, ионов, метабо-

Таблица 3

Типы связей и взаимодействий в биологически важных молекулах

Связи (взаимодействия)	Примеры	Энергия взаимодействия, кДж/моль	Зависимость силы взаимодействия от расстояния ( $r$ )
1. Ковалентные	а) связи, определяющие первичную структуру б) —S—S—связи	146—680 210	Простой зависимости нет
2. Ионные	$\text{COO}^- \rightarrow \text{Ca}^{2+} \leftarrow \text{COO}^-$	40—400	$\frac{q_1 q_2}{4\pi \epsilon_0 \epsilon r^2}$
3. Ион-дипольные	$\text{Na}^+(\text{H}_2\text{O})_n$	4—40	$\frac{qD}{4\pi \epsilon_0 \epsilon r^2}$
4. Дисперсионные	Взаимодействие осциллирующих диполей	4—40	$\frac{3 I \alpha^2}{4 r^6}$
5. Водородные	—C=O...H—N—	8—25	Простой зависимости нет
6. Гидрофобные взаимодействия	Формирование липидного бислоя и неполярных областей в белке	4—8,5	То же

$q, q_1, q_2$  — заряды взаимодействующих ионов,  $\epsilon_0$  — диэлектрическая проницаемость вакуума,  $\epsilon$  — относительная диэлектрическая проницаемость среды,  $D$  — дипольный момент,  $n$  — число молекул воды в сольватной оболочке иона.  $\alpha$  — поляризуемость,  $I$  — первый потенциал ионизации атома или молекулы. Точками обозначены ионные или водородные связи.

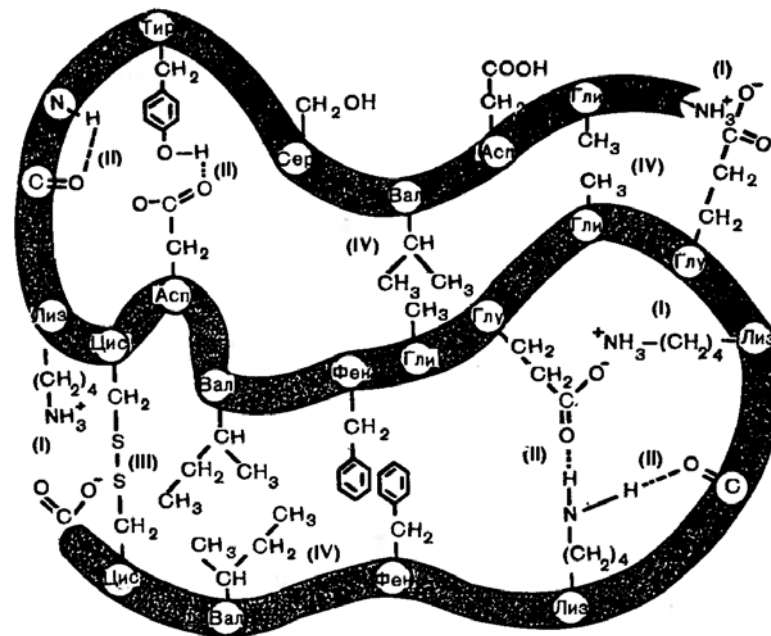


Рис. 20. Связи и взаимодействия, стабилизирующие пространственную структуру белков.

I — ионная; II — водородная; III — дисульфидная; IV — область гидрофобных взаимодействий между неполярными группами.

литов, лекарств и др.) на структуру макромолекул, понять как и почему может нарушиться структура и функционирование биополимеров в патологии.

### 3.2. ВИДЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В МАКРОМОЛЕКУЛАХ

В табл. 3 дан перечень типов связей и энергии взаимодействий в биологически важных молекулах.

Следует иметь в виду, что средняя тепловая энергия молекул при комнатной температуре составляет примерно 2,5 кДж/моль, что меньше приведенных в таблице энергий связи.

Связи, стабилизирующие пространственную структуру белков, показаны также на рис. 20.

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, нуклеиновые кислоты связывают ионы  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ , а многие белки связывают ионы  $Ca^{2+}$ .

Интересным примером ионных связей могут служить связи между  $\alpha$ -цепями в молекуле гемоглобина, обусловленные, в частности, взаимодействием положительно заряженной аминсгруппы концевой валина  $\alpha_1$ -цепи (вал I  $\alpha_1$ ) с концевой отрицательно заряженной карбоксильной группой аргинина  $\alpha_2$ -цепи (арг 141  $\alpha_2$ ). Снижение pH приводит к разрыву данной ионной связи, ослаблению взаимодействия между  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -цепями, изменению конформации макромолекулы и уменьшению сродства гемоглобина к  $O_2$  (эффект Бора). Благодаря этому эффекту интенсивно дышащих тканях, где лактат,  $CO_2$  и другие кислые конечные продукты метаболизма понижают pH крови, гемоглобин освобождает значительную часть связанного им кислорода. Для многих явлений в организме в норме (секреция, мышечное сокращение, свертывание крови) и патологии важно образование комплексов ионов с макромолекулами. Образование этих комплексов происходит за счет ион-ионных и ион-дипольных взаимодействий (см. табл. 3).

Рассмотрим в качестве примера действие антитоксина антаманида, ингибирующего токсическое действие яда бледной поганки. Согласно Ю. А. Овчинникову и В. Г. Иванову, в основе действия антаманида лежит образование его комплексов с ионами  $Ca^{2+}$ , сорбированными на клеточной мембране (рис. 21). Связывание антаманида с  $Ca^{2+}$  обусловлено ион-дипольными взаимодействиями, связывание  $Ca^{2+}$  с фосфолипидами — ион-ионными. В результате связывания антаманид закрывает определенный участок мембраны, меняя ее свойства, в том числе проницаемость по отношению к токсинам бледной поганки.

Следует сказать еще об одном типе взаимодействий между молекулами — наименее специфическом. Между любыми молекулами существует притяжение, обусловленное движением электронов по орбитам, которое приводит к появлению осциллирующих диполей. Между такими осциллирующими диполями соседних молекул возникает резонанс и притяжение по принципу диполь-дипольного взаимодействия. Эти взаимодействия называют дисперсионными. Они играют значительную роль в связывании

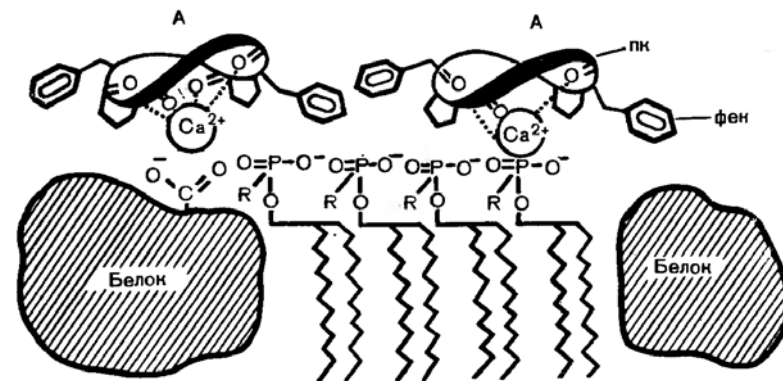
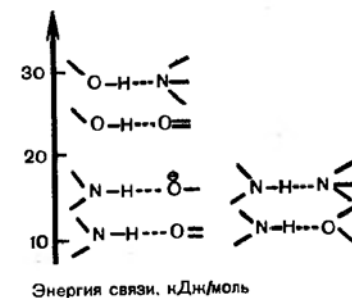


Рис. 21. Возможный принцип взаимодействия антаманида с биомембраной (по данным Ю. А. Овчинникова и В. Г. Иванова).

R — характеристическая группа фосфолипидов; A — молекула антаманида; пк — пептидное кольцо; Фен — фенилаланин.

Рис. 22. Водородные связи, встречающиеся в биологических системах.



группы гема в «кармане», образованном боковыми цепями гемоглобина, взаимодействию углеводородных цепей друг с другом в липидной части биомембран и других случаях взаимодействий неполярных групп молекул.

Важную роль в формировании структуры макромолекул играют водородные связи. Последние обусловлены способностью самого малого атомного ядра протона проникать в электронные оболочки соединяемых им электроотрицательных атомов и их стягивать. Примеры водородных связей, типичных для биологических систем, приведены на рис. 22. Там же даны энергии этих связей. Обычно в биологических молекулах атомы, удерживаемые водородными связями, находятся на расстояниях от 250 до 320 пм. Ядро водорода (или протон), как правило, отстоит приблизительно на 95—100 пм от одного из электроотрицательных атомов и на 140—220 пм от другого. Чем более асимметрична связь, т. е. больше различие расстояний от протона до атомов, с которыми он связан, тем легче эта связь разрывается и тем меньше ее энергия.

Водородные связи играют важнейшую роль в поддержании определенной вторичной структуры не только белков, но и нуклеиновых кислот. Одновременное образование большого числа слабых, в частности, водородных связей в макромолекулах лежит в основе явления комплементарности, т. е. строго структурного соответствия и специфичности связывания больших участков молекул. Например, Г—Ц-пары обладают энергией связи всего лишь 5 кДж/моль, и константа диссоциации комплекса Г—Ц, рассчитанная по уравнению Больцмана (уравнение 1.10), равна примерно 1/7. Иначе говоря, на каждые семь пар оснований в 1 М растворе приходится одна пара свободных оснований. Для динуклеотидов Ц<sub>2</sub> и Г<sub>2</sub> общая энергия связи цепей в комплексе увеличится вдвое, а константа диссоциации комплекса Ц<sub>2</sub>—Г<sub>2</sub>, согласно уравнению Больцмана, станет равной  $(1/7)^2 = 1/49$ . Таким образом, концентрация спаренной формы будет превышать концентрацию свободных динуклеотидов в 49 раз.

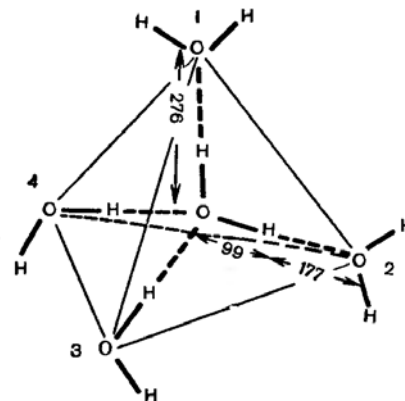
Ясно, что для полинуклеотидов, содержащих тысячи оснований, равновесие будет практически полностью смещено в сторону комплекса с водородными связями.

### 3.3. СТРУКТУРА ВОДЫ И ГИДРОФОБНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Большинство биополимеров функционирует в водной среде, и взаимодействие составляющих их мономеров с водой во многом определяет пространственную конфигурацию макромолекулы в целом.

Попытаемся выяснить, что представляет собой жидкая вода и почему она играет столь важную роль в биологических процессах. В отличие от гидридов элементов VI группы: H<sub>2</sub>S, H<sub>2</sub>Se, H<sub>2</sub>Te молекула H<sub>2</sub>O является диполем из-за своей асимметрии: линии, соединяющие центры атома кислорода с центрами атомов водорода, образуют угол 104,28°. Атом кислорода в молекуле H<sub>2</sub>O расположен как бы в центре тетраэдра, в двух вершинах которого находятся атомы водорода (рис. 23). 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. Бла-

Рис. 23. Тетраэдрическая структура полностью координированной воды. Молекулы 1 и 2, так же как и центральная молекула H<sub>2</sub>O, расположены в плоскости листа бумаги. Молекула 3 расположена над этой плоскостью, молекула 4 под ней, так что атомы кислорода молекулы 1—4 находятся в углах правильного тетраэдра. Расстояния даны в пикометрах.



годаря этим взаимодействиям в жидкой воде формируются ассоциации молекул, называемые кластерами. Структура кластеров сходна со структурой льда. В кристаллах льда каждая молекула H<sub>2</sub>O связана водородными связями с 4 соседями, при этом атомы кислорода соседних молекул также располагаются в вершинах тетраэдров (см. рис. 23). Такая кристаллическая решетка отличается рыхлостью: в кристаллах льда атомы расположены сравнительно далеко друг от друга, и это объясняется тем, что 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. Если бы в жидкой воде не было кластеров и молекулы воды были бы плотно упакованы, то, как показывают расчеты, ее плотность при 25° С составляла бы не 1,0, а 1,8 г/см<sup>3</sup>. Наличие в воде кластеров подтверждают также данные рентгенографического анализа, показывающие, что в воде имеются признаки упорядоченной структуры. Соответствующая этим представлениям модель изображена на рис. 24. Между неструктурированной частью воды и кластерами постоянно существует обмен молекулами, так что в среднем каждый кластер живет всего 10<sup>-10</sup>—10<sup>-11</sup> с.

При 20° С доля не связанных в кластеры молекул составляет 29,5%; с повышением температуры средний размер кластеров уменьшается и доля несвязанных молекул возрастает. Кстати, именно с плавлением кластеров связана аномально высокая теплоемкость воды.

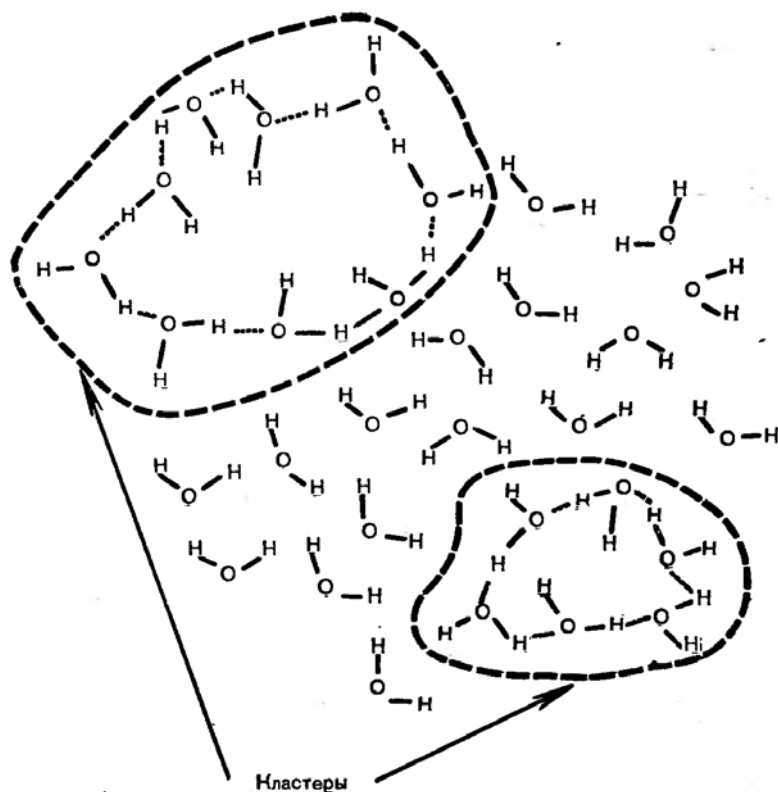


Рис. 24. Модель мерцающих кластеров для жидкой воды.

В воде хорошо растворяются те органические соединения, которые содержат полярные группы и способны вступать в диполь-дипольное взаимодействие с молекулами воды или образовывать с ними водородные связи. Таковы, в частности, группы:  $-\text{OH}$ ,  $>\text{C}=\text{O}$ ,  $-\text{NH}_2$ .

Напротив, неполярные молекулы углеводов плохо растворяются или совсем не растворяются в воде.

К плохой растворимости в воде таких неполярных веществ, как парафин или растительное масло, мы так привыкли, что обычно не задумываемся, с чем это связано. Однако действительная причина такого явления кроется в рассмотренной выше особенности структуры воды и была выяснена лишь после измерения термодинамических параметров процесса растворения углеводов в воде. Как ни плохо растворяются в воде, скажем  $\text{CCl}_4$  или бензол,

используя методы, о которых говорилось в главе 1, удалось измерить для этого процесса  $\Delta H$ ,  $\Delta G$  и  $\Delta S$ . Для бензола при 298 K  $\Delta H = 0$ ,  $\Delta G = 17,2$  кДж/моль и  $\Delta S = -58,6$  Дж/моль · град. Положительное изменение свободной энергии как раз и означает низкую растворимость бензола в воде. А поскольку  $\Delta H = 0$ , то все изменение свободной энергии системы при растворении связано с уменьшением энтропии.

Что же означает уменьшение энтропии при растворении неполярных молекул в воде? Прямые физические методы показывают, что оно связано с увеличением доли кластеров. При растворении молекулы углеводов втискиваются 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).

#### 3.4. РОЛЬ ГИДРОФОБНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ФОРМИРОВАНИИ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВ

Аминокислотные остатки, входящие в состав полипептидной цепи, могут быть условно разделены на две группы: неполярные (гидрофобные) и полярные (гидрофильные). Экспериментально степень гидрофобности аминокислотных остатков можно оценить по разности свободных энергий растворения аминокислоты в слабополярном растворителе, например этиловом спирте и воде. Полученные величины разностей свободных энергий, приводящихся на боковую группу свободных аминокислот при их переносе из  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  в воду ( $\Delta G_{\text{ам}}$ ), приведены в табл. 4.

Предположение об определяющей роли гидрофобных взаимодействий в формировании пространственной структуры белка было высказано в 1944 г. советскими учеными С. Е. Бреслером и Д. Л. Талмудом. Идея состояла в том, что гибкая макромолекула белка в воде сворачивается в глобулу, так как полярные остатки белка стремятся к



фибрилярная структура (крестики на рис. 25). Напротив, при  $b < b_0$  гидрофильные остатки не полностью закрывают гидрофобные. Гидрофобные взаимодействия между такими участками ведут к агрегации белков и возникновению надмолекулярных структур (треугольники на рис. 25). Таким образом, белки, для которых значения  $b$  лежат выше кривой Фишера, представляют собой эллипсоиды и фибриллы, на кривой — глобулы, под кривой располагаются белки, образующие надмолекулярные (четвертичные) структуры.

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

Советский биофизик М. В. Волькенштейн в 1966 г. обратил внимание на то, что генетический код ДНК построен таким образом, что в случае произвольной замены одного нуклеотида в триплете возникающая мутация мало изменяет гидрофобность кодируемой аминокислоты. Благодаря этому обстоятельству большинство мутаций не изменяет пространственную структуру белка.

### 3.5. СВЯЗЫВАНИЕ ЛИГАНДОВ С МАКРОМОЛЕКУЛАМИ

Образование комплексов между малой молекулой (ионом, метаболитом, гормоном, лекарственным препаратом и др.), именуемой лигандом ( $L$ ) и центрами связывания лиганда на макромолекуле ( $M$ ) лежит в основе функционирования многих биополимеров. Образование комплекса  $ML$  можно рассматривать как химическую реакцию  $M + L \rightleftharpoons ML$ , характеризующую константой образования комплекса, т. е. константой связывания ( $K$ ):

$$K = [ML]/[L][M]. \quad (3.2)$$

Обозначим через  $r$  концентрацию связанного лиганда  $r = [ML]$ ,  $c$  — концентрацию свободного лиганда  $c = [L]$ ,  $N$  — концентрацию центров связывания, тогда концентрация не занятых лигандом центров будет равна  $N - r = [M]$ . В этих обозначениях уравнение (3.2) перепишется в виде:

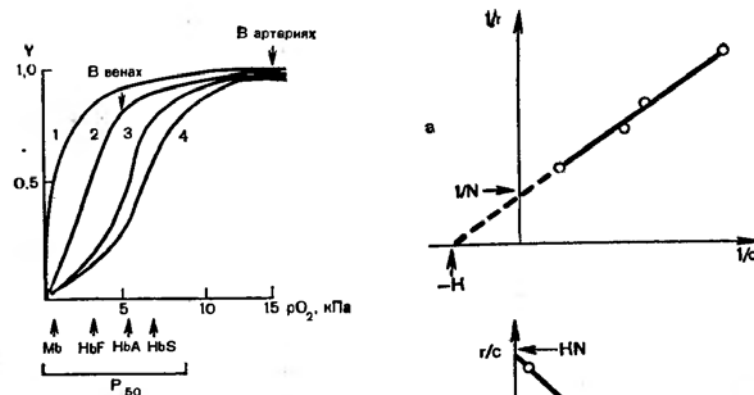


Рис. 26. Кривые насыщения кислородом миоглобина Mb(1) и гемоглобинов: фетального (HbF) (2), нормального (HbA) (3), больного серповидноклеточной анемией (HbS) (4); Y — степень насыщения Hb кислородом;  $pO_2$  — парциальное давление  $O_2$ .

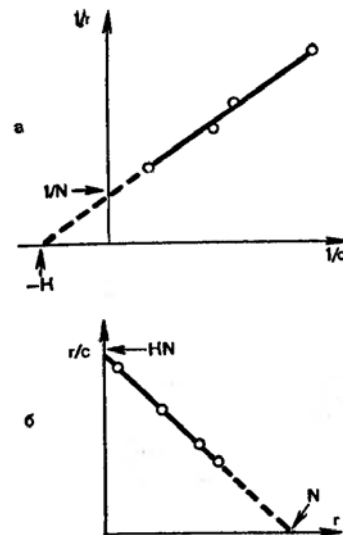


Рис. 27. Определение параметров сродства лиганда к макромолекуле в двойных обратных координатах (а) и координатах Скэтчарда (б) по экспериментальным данным (линия с кружочками).  $r$ ,  $c$  — концентрации связанного и свободного лиганда (соответственно);  $K$  — константа связывания;  $N$  — число участков связывания.

$$K = \frac{r}{c(N-r)}. \quad (3.3)$$

При заполнении половины центров связывания  $r = N/2$  из уравнения (3.3) получаем значение  $K$ :

$$K = \frac{N/2}{c_0(N - N/2)} = 1/c_0, \quad (3.4)$$

т. е.  $K$  обратна концентрации свободного лиганда ( $c_0$ ) в условиях 50% заполнения центров связывания. Хорошо изученный пример связывания лиганда — образование комплекса кислорода с гемосодержащими белками. На рис. 26 представлены кривые насыщения кислородом миоглобина (Mb) и различных гемоглобинов (Hb) человека: фетального (HbF), нормального (HbA) и больного серповидноклеточной анемией (HbS). При построении кривых связывания  $O_2$  с Hb и Mb удобнее измерять не концентра-



цию  $O_2$ , а его парциальное давление —  $pO_2$ , которое прямо пропорционально концентрации  $O_2$  в растворе. Величина  $pO_2$ , при котором 50% Hb оксигенировано, является мерой сродства Hb к кислороду и обозначается  $P_{50}$ . Уменьшение значений  $P_{50}$  означает увеличение  $K$ , т. е. способности связывать  $O_2$ . Из приведенных значений  $P_{50}$ , в частности, следует, что HbA будет отдавать  $O_2$  гемоглобинам плода и миоглобину мышц.

Уравнение кривой связывания, т. е. зависимость  $r = f(c)$  можно получить из уравнения (3.3):  $Kc(N - r) = r$ . Откуда

$$r = \frac{KcN}{1 + Kc} \quad (3.5)$$

Это уравнение описывает кривую, аналогичную изотерме адсорбции Ленгмюра. С увеличением концентрации лиганда ( $c \rightarrow \infty$ ) доля занятых центров  $r$  стремится к  $N$ , так как при  $Kc \gg 1$ ,  $Kc + 1 \approx Kc$  и  $r = N$ . Из рис. 26 видно, что только связывание  $O_2$  с Mb описывается гиперболой. Связывание Hb с  $O_2$  описывается сигмоидной кривой, что, как будет объяснено далее, обусловлено взаимодействием субъединиц при связывании кислорода.

Далеко не всегда удается получить экспериментальные кривые, на которых при связывании достигалось бы насыщение. Да в этом и нет необходимости. Уравнение (3.5) легко преобразуется так, чтобы можно было определить параметры сродства по связыванию малых концентраций лиганда.

Наиболее часто используют два вида преобразований: двойные обратные координаты и координаты Скэтчарда (рис. 27). В двойных обратных координатах уравнение связывания преобразуют к виду  $1/r = f(1/c)$ :

$$\frac{1}{r} = \frac{1 + Kc}{KcN} = \frac{1}{KcN} + \frac{1}{N} \quad (3.6)$$

Параметры сродства определяют в этом случае по отрезкам, отсекаемым на осях координат: отсечка на оси абсцисс ( $1/r = 0$ ) равна  $-K$ , а отсечка на оси ординат ( $1/c = 0$ ) равна  $1/N$ . По Скэтчарду уравнение связывания имеет вид:

$$r/c = KN - Kr \quad (3.7)$$

При этом отсечка на оси абсцисс равна  $N$ , а на оси ординат  $KN$ .

Следует отметить, что скорости протекания некоторых процессов (ферментативные реакции, транспорт веществ переносчиками через мембраны), как будет видно из последующих глав, описываются уравнениями, сходными с уравнениями связывания. Это обусловлено тем, что скорость протекания ферментативных реакций определяется степенью насыщения фермента субстратом. Аналогично скорость транспорта веществ через мембрану определяется степенью насыщения переносчика транспортируемым веществом (см. главы 6 и 7).

### 3.6. КООПЕРАТИВНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ ЛИГАНДОВ

Кривая насыщения Hb кислородом в отличие от миоглобина представляет собой явно выраженную сигмоидную кривую (см. рис. 26). В 1909 г. Хилл предложил модель связывания  $O_2$  с Hb, объясняющую сигмоидный характер этой кривой. Согласно модели Хилла, центры связывания  $O_2$  на молекуле Hb не являются независимыми. Присоединение первой молекулы  $O_2$  к одному из центров увеличивает сродство к  $O_2$  других центров, а связывание двух молекул  $O_2$  еще более облегчает связывание третьей молекулы  $O_2$  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, т. е. когда связывание первого лиганда увеличивает сродство остальных центров настолько, что они заполняются практически мгновенно. Это предположение эквивалентно тому, что в любой равновесной смеси лиганда ( $L$ ) и макромолекул, имеющих  $n$  идентичных центров связывания, присутствуют в значительных концентрациях либо только макромолекулы с незанятыми центрами связывания ( $M$ ), либо комплексы лиганда с макромолекулой ( $ML_n$ ), где все центры заполнены. Для реакции практически одновременного присоединения  $n$  лигандов  $M + nL \rightleftharpoons ML_n$  константа связывания ( $\bar{K}$ ) определяется выражением:

$$\bar{K} = \frac{[ML_n]}{c^n [M]}, \quad (3.8)$$

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

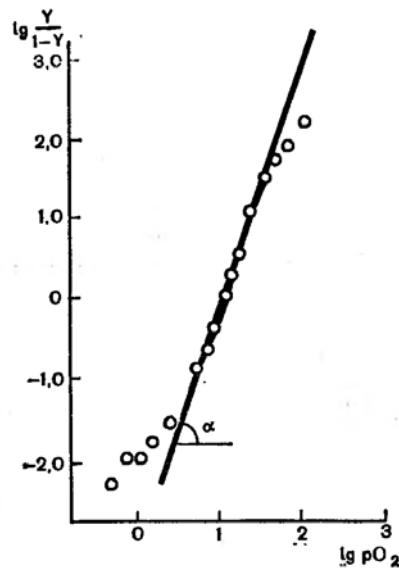


Рис. 28. График Хилла для насыщения гемоглобина лошади кислородом ( $h = \text{tg} \alpha = 2,9$ ).

$P_{O_2}$  — парциальное давление кислорода (относительные единицы), пропорциональное его концентрации.

Следует иметь в виду, что константа связывания в этой условной реакции представляет собой произведение соответствующих констант связывания, характеризующих присоединение  $i$ -го лиганда к комплексу  $ML_{i-1}$ , т. е.  $\bar{K} = (K_1 \dots K_n)$ . Так как степень насыщения  $Y$  есть,

$$Y = [ML_n]([M] + [ML_n])^{-1}$$

$$1 - Y = [M]([M] + [ML_n])^{-1}$$

то, логарифмируя отношение этих величин и учитывая вытекающее из (3.8) уравнение  $[ML_n] = \bar{K}c^n[M]$ , получим:

$$\lg \{Y/(1 - Y)\} = \lg \bar{K} + n \lg c. \quad (3.9)$$

Уравнение (3.9) известно как *уравнение Хилла*, а прямая, являющаяся графическим представлением зависимости  $\lg\{Y/(1 - Y)\}$  от  $\lg c$ , называется *графиком Хилла*; ее наклон равен  $n$ . Хотя уравнение (3.9) 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  $O_2$  с HbA, имеющим 4 гема, характеризуется  $h = 2,9$  (рис. 28), а с эритрокруорином (аналогом гемоглобина) кольчатого червя пескожила, имеющим 96 гемов, расположенных по 8 в 12 субъединицах, характеризуется  $h = 6$ . Уравнение Хилла удовлетворительно описывает кооперативное связывание экспериментально получаемых кривых в интервале от 10 до 90% насыщения (прямолинейный участок кривых). По коэффициенту Хилла определяют характер и степень кооператив-

ности. Если  $h = 1$ , то кооперативность отсутствует, как, например, в случае миоглобина. При  $h < 1$  кооперативность отрицательная, т. е. происходит уменьшение сродства при последовательном связывании лигандов. При  $h > 1$  имеет место положительная кооперативность, т. е. усиление сродства по мере связывания лиганда. Кооперативность связывания лигандов является лишь одним из примеров кооперативных процессов в биологии, к числу которых относятся также плавление ДНК, обратимая денатурация белка, фазовые переходы в биомембранах и др.

### 3.7. КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МОЛЕКУЛЫ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ ОКСИГЕНАЦИИ

Молекула дезоксигемоглобина отличается от молекулы оксигемоглобина как третичной структурой всех четырех субъединиц, так и их объединением в четвертичную структуру. Оксигенация начинается с присоединения молекулы  $O_2$  к  $Fe^{2+}$  гема одной из субъединиц. Полинг и Корнелл с помощью измерений магнитной восприимчивости показали, что дезоксигемоглобин содержит «высокоспиновый» катион  $Fe^{2+}$  с четырьмя неспаренными электронами, а оксигемоглобин — «низкоспиновый» катион  $Fe^{2+}$  без неспаренных электронов (рис. 29, а). Как было показано на примере простых органических комплексов, ионный радиус  $Fe^{2+}$ , равный в высокоспиновом состоянии 76 пм, уменьшается примерно на 17% при переходе в низкоспиновое состояние. В свою очередь расположение  $Fe^{2+}$  относительно плоскости порфиринового кольца зависит от его ионного радиуса, а именно в высокоспиновом состоянии ионный радиус  $Fe^{2+}$  слишком велик, чтобы ион мог располагаться в плоскости порфиринового кольца гема. Уменьшение радиуса  $Fe^{2+}$  позволяет ему поместиться между атомами пиррольного азота в плоскости порфиринового кольца (рис. 29, б). Это смещение  $Fe^{2+}$  в плоскость порфиринового кольца при оксигенации в свою очередь приводит к смещению связанного с  $Fe^{2+}$  атома азота гистидина. Смещение гистидина приводит к изменениям в третичной структуре субъединицы (рис. 29, в), что вызывает ослабление водородных и ионных связей в области контактов между субъединицами, т. е. изменение четвертичной структуры гемоглобина. А именно, оксигенация  $\alpha_1$ -субъединицы ведет к частичному разрыву ионных связей между  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -субъединицами, что облегчает оксиге-

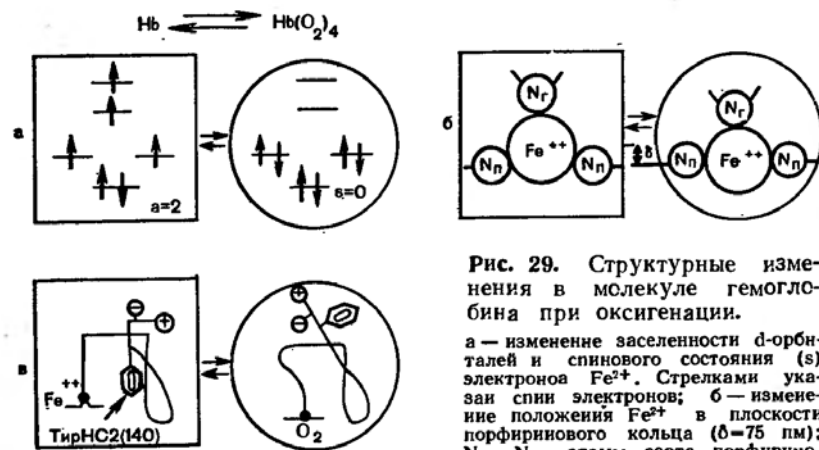


Рис. 29. Структурные изменения в молекуле гемоглобина при оксигенации.

а — изменение заселенности  $d$ -орбиталей и спинового состояния ( $s$ ) электронов  $\text{Fe}^{2+}$ . Стрелками указан спин электронов; б — изменение положения  $\text{Fe}^{2+}$  в плоскости порфиринового кольца ( $\delta = 75$  пм);  $\text{N}_\Pi$ ,  $\text{N}_\Gamma$  — атомы азота порфиринового кольца и гистидина (соответственно); в — изменение конформации фрагмента  $\alpha$ -субъединицы.

нацию  $\alpha_2$ . В свою очередь при оксигенации  $\alpha_2$  разрываются ионные связи между  $\alpha_2$ - и  $\beta_1$ -субъединицами, что облегчает их оксигенацию. Рассмотренное взаимодействие между субъединицами лежит в основе кооперативности связывания  $\text{O}_2$ -гемоглобином. Взаимодействие субъединиц и, следовательно, кооперативный эффект связывания  $\text{O}_2$ , ослабляются при мутантных замещениях аминокислот, участвующих в контактах между субъединицами.

Следует иметь в виду, что третичная и четвертичная структуры гемоглобина быстро и непрерывно осциллируют между окси- и дезоксиконформациями. В присутствии  $\text{O}_2$  или при увеличении рН среды происходит сдвиг конформационного равновесия в сторону образования оксиформы.

Таким образом, механизм конформационных переходов в молекуле гемоглобина запускается при оксигенации изменением распределения электронов в атоме  $\text{Fe}^{2+}$  по  $d$ -орбиталям, что ведет к изменению ионного радиуса железа при 13 пм. Это изменение трансформируется в смещение связанного с гемом гистидина, что влечет за собой конформационные перестройки в третичной структуре белка, связанные с перемещениями уже до 700 пм. Механизм оксигенации гемоглобина является примером электронно-конформационных взаимодействий, общая концепция которых была развита советским биофизиком М. В. Воль-

кенштейном (1971). Суть этой концепции заключается в том, что в макромолекулах осуществляется сопряжение химических (электронных) процессов с конформационными (структурные перестройки).

### 3.8. ГЕМОГЛОБИНОПАТИИ — ПРИМЕР МОЛЕКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Успехи молекулярной биологии и биофизики позволили медицине подойти к рассмотрению некоторых патологий на молекулярном уровне. Благодаря такому подходу в ряде случаев удалось обнаружить скрытые молекулярные аномалии, лежащие в основе ряда заболеваний. В настоящее время наиболее изученными среди них являются гемоглобинопатии.

Нарушение функционирования гемоглобина может происходить по следующим причинам:

1) нарушение связывания гема аминокислотами, которые предотвращают образование координационных связей с железом конкурирующих с  $\text{O}_2$  других лигандов (свободных аминокислот, воды, фосфата);

2) нарушение конформации полипептидных цепей ( $\alpha$ -спиралей глобина);

3) нарушение  $\alpha_1\beta_1$ - и  $\alpha_1\beta_2$ -контактов между субъединицами, сопровождающееся изменением четвертичной структуры.

Аминокислотные замены или делеции, вызывающие возникновение любого из трех перечисленных нарушений  $\text{Hb}$ , являются причиной ряда врожденных гемолитических анемий. В настоящее время описано свыше 200 разновидностей гемоглобина человека, имеющих специфические различия в аминокислотных последовательностях.

Примером нарушений первого типа (замена гемконтактных аминокислот) является  $\text{Hb}$  Хаммерсмит, в котором гемконтактный фенилаланин ( $\beta = 42$  СД1), связанный с гемом за счет гидрофобных взаимодействий, заменен на слабогидрофобный серин (см. табл. 4). Эта мутация приводит к ослаблению связи гема с глобином и вхождению в гемовый канал воды. Нарушение функционирования гемоглобина при этом сопровождается тяжелой гемолитической анемией.

Примером нарушения контактов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц является  $\text{Hb}$  Хиросима, в котором конечный гистидин (НС-3/146- $\beta$ ) замещен аспарагиновой кислотой, образующей

более слабую связь с остатком лизина  $\alpha$ -цепи ( $C5/40 = \alpha$ ). В результате более слабых взаимодействий между субъединицами равновесие между окси- и дезоксиформами смещается в сторону оксиформы, где связи между субъединицами ослаблены.

Примером заболевания, обусловленного нарушениями конформации полипептидной цепи, является серповидноклеточная анемия. При этом заболевании эритроциты имеют не обычную круглую, а серповидную или зазубренную форму и становятся жесткими, что связано с изменением растворимости гемоглобина в эритроцитах больных. Молекулы соединяются друг с другом, образуя квазикристаллические структуры, обуславливающие аномальную форму и увеличение жесткости эритроцита. Серповидные клетки загораживают проход другим эритроцитам, которые в свою очередь становятся серповидными, отдавая кислород. Закупорка мелких кровеносных сосудов серповидными клетками обуславливает многие симптомы серповидноклеточной анемии. Часто люди, страдающие этой болезнью, умирают в течение первых десяти лет жизни. Важный шаг в изучении этого заболевания был сделан в 1949 г. Л. Полингом, который показал, что именно молекула аномального гемоглобина, называемого гемоглобином S (HbS), ответственна за приобретение клетками серповидной формы. В дальнейших исследованиях было обнаружено, что HbS отличается от нормального HbA лишь тем, что в  $\beta$ -цепях в положении 6 гидрофильная отрицательно заряженная глутаминовая кислота заменена гидрофобным валином, не несущим заряда. Замена полярного остатка на гидрофобный приводит к возникновению гидрофобных взаимодействий между 1-м и 6-м остатками валина в молекуле Hb (рис. 30). Увеличение гидрофобности одного из концов  $\beta$ -цепи приводит к агрегации молекул и образованию в эритроците больших молекулярных «стопок» белка за счет гидрофобных взаимодействий.

Понимание молекулярного механизма возникновения серповидноклеточной анемии позволило наметить пути лечения этого заболевания. Априори ясно, что существует два принципиально различных пути лечения: либо воздействие на мутировавший ген, либо на аномальный белок. Первый путь, возможно, будет реализован в будущем, второй — реализован уже сейчас.

Из анализа причин заболевания следует, что для исправления дефекта необходимо устранить гидрофобную

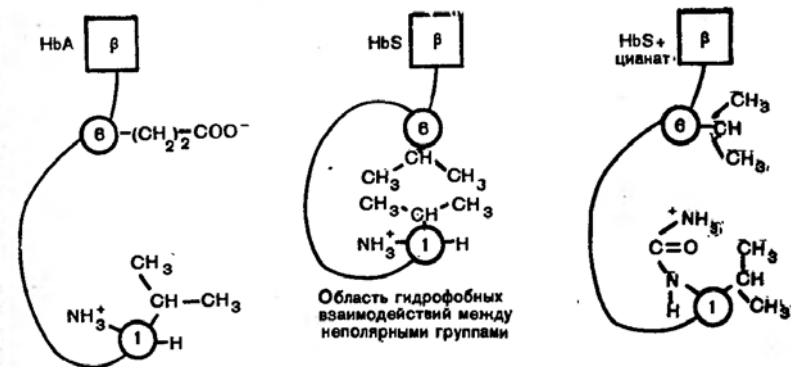
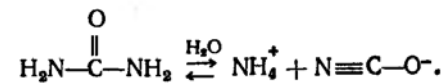


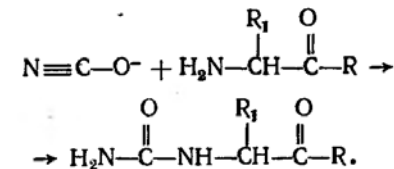
Рис. 30. Схема взаимодействия между аминокислотами в положениях 1 и 6  $\beta$ -цепи гемоглобинов.

1,6 —  $\alpha$ -углеродные атомы аминокислот в соответствующем положении.

агрегацию молекул HbS. Первой попыткой лечения серповидноклеточной анемии, основанной на таком подходе, было введение в кровь больных мочевины, ослабляющей гидрофобные взаимодействия. Такой подход дал вначале обнадеживающие результаты, но поддерживать высокий уровень мочевины в крови оказалось невозможным из-за ее токсичности. Д. Мэннинг и Э. Керами высказали предположение, что положительные результаты применения мочевины связаны с действием не самой мочевины, а образующегося из нее цианата ( $N \equiv C - O^-$ ):



Цианат, сходный по структуре с  $CO_2$  может практически необратимо реагировать с концевыми аминокислотами Hb:



Цианат остается связанным с гемоглобином до конца жизни эритроцита. Присоединение полярного цианата к концевому валину уменьшает его гидрофобность и тем самым ослабляет гидрофобные взаимодействия на этом участке.

Таким образом, отсутствие полярной глутаминовой кислоты компенсируется увеличением полярности концевого валина. Обработка эритроцитов цианатом приводит к нормализации формы клеток и кривой насыщения Hb кислородом, а также устранению симптомов заболевания. В дальнейшем было показано, что обработку эритроцитов цианатом можно заменить принятием больными внутрь определенных доз цианата.

Разработка метода лечения серповидноклеточной анемии доказала реальную пользу молекулярного подхода к решению медицинских проблем.

#### Глава 4

### МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

#### 4.1. ОСНОВНЫЕ ВИДЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ

Живой организм представляет собой слишком сложную систему, чтобы его можно было рассматривать сразу во всех подробностях; поэтому исследователь всегда выбирает упрощенную точку зрения, подходящую для решения конкретно поставленной задачи. Это сознательное упрощение реальных биосистем и лежит в основе метода моделирования. Модель — это условный образ реального объекта, конструируемый исследователем так, чтобы отобразить характеристики объекта (свойства, взаимосвязи, структурные и функциональные параметры и т. д.), существенные для целей исследования. Таким образом, выбор модели определяется целями исследования.

Модели, используемые в медицине и биологии, обычно делят на три категории:

1. Биологические предметные модели, на которых изучаются общие биологические закономерности, патологические процессы, действие различных препаратов, методы лечения и т. д. К этому классу моделей могут быть отнесены лабораторные животные, изолированные органы, культуры клеток, суспензии органелл, фосфолипидные мембраны и т. д.

2. Физические (аналоговые) модели, т. е. физические системы, обладающие аналогичным с моделируемым объектом поведением. Например, деформации, возникающие в кости при различных нагрузках, могут быть изучены

на специально изготовленном макете кости. Движение крови по крупным сосудам моделируется цепочкой сопротивлений, емкостей и индуктивностей (см. рис. 97). К физическим моделям можно также отнести технические устройства, временно или постоянно заменяющие органы и системы живого организма: аппараты искусственного дыхания (модель легких), искусственного кровообращения (модель сердца), кардиостимуляторы и т. д.

3. Математические модели представляют собой системы математических выражений — формул, функций, уравнений и т. д., описывающих те или иные свойства изучаемого объекта, явления, процесса. При создании математической модели используют физические закономерности, выявленные при экспериментальном изучении объекта моделирования. Так, математические модели электрических явлений в органах, например описание формы электрограмм, основаны на законах электродинамики, а модели кровообращения — на законах гидродинамики. В последнее время благодаря использованию ЭВМ резко расширились возможности получения количественных ответов методом математического моделирования, и стало возможным изучать этим методом гораздо более сложные системы. Это привело к значительному повышению научного и практического значения математического моделирования.

Математическое моделирование как метод исследования обладает рядом несомненных достоинств.

Во-первых, сам метод изложения количественных закономерностей математическим языком, т. е. языком графиков и формул, точен и экономичен. Во-вторых, проверка гипотез, сформулированных на основе опытных данных, может быть осуществлена путем испытания математической модели, созданной на основе этой гипотезы. Результаты такого исследования либо дают добавочные подтверждения гипотез, либо приводят к необходимости их уточнения или даже пересмотра.

Наконец математическая модель позволяет судить о поведении таких систем и в таких условиях, которые трудно создать в эксперименте или в клинике, изучать работу исследуемой системы целиком или работу любой ее отдельной части.

Практическая ценность метода математического моделирования заключается в следующем:

1) правильно составленная и всесторонне использованная математическая модель позволяет уменьшить время

исследования биосистем, сократить количество животных, необходимых для такого исследования, и число опытов;  
 2) математическая модель облегчает решение задач прогнозирования хода и результатов экспериментов, течение болезней, эффектов лечебных воздействий. Такое прогнозирование позволяет подобрать оптимальные варианты лечения, в частности применения лекарственных препаратов.

#### 4.2. ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Рассмотрим основные этапы математического моделирования на примере так называемой фармакокинетической модели, описывающей кинетику распределения введенных в организм препаратов (лекарств, индикаторов). Терапевтический эффект препарата зависит от его концентрации  $c$  в больном органе (назовем его мишенью) и времени нахождения лекарства в действующей концентрации. Задачей врача является оптимальное назначение лекарства, т. е. выбор дозы, пути и периодичности введения, которое обеспечивало бы достаточный терапевтический эффект при минимальном побочном действии. Это и является конечной целью моделирования в данном случае. Формулировка цели является первым этапом моделирования.

На втором этапе моделирования формулируется научная проблема и на основании известных данных строится упрощенная схема реального процесса. В рассматриваемом случае проблема заключается в составлении уравнений, определяющих зависимость концентрации препарата в органе-мишени от времени  $t$ , т. е. функцию  $c(t)$ .

Из физиологии известно, что концентрация препарата в органе может зависеть от ряда процессов, скорости которых характеризуются соответствующими константами  $k$ :

- 1) от всасывания препарата в кровеносное русло при внесосудистом введении (константа  $k_{12}$ );
- 2) от транспорта препарата из крови в орган ( $k_{23}$ );
- 3) от транспорта препарата из органа в кровь ( $k_{32}$ );
- 4) от удаления (элиминации) препарата из крови почками и разрушения его печенью ( $k_4$ ).

Соответствующая этим процессам схема приведена на рис. 31, а. Изображение моделируемых процессов в виде определенной схемы является третьим этапом математи-

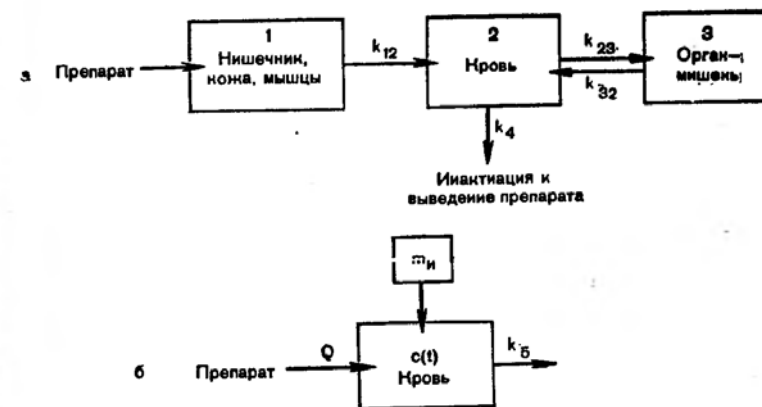


Рис. 31. Схемы фармакокинетических моделей.

а — двухчастевая модель со всасыванием; б — введение препарата в кровь с постоянной скоростью и нагрузочной дозой  $m_D$ . Обозначения и константы приведены в тексте.

ческого моделирования. Всякая схема предполагает упрощение, и очень важно знать, что можно упрощать, а что — нельзя. В нашей схеме мы отказываемся от учета молекулярных механизмов процесса (механизмов проницаемости, связывания и инактивации препарата и т. д.) и рассматриваем только кинетику, т. е. в течение во времени всех процессов, а не устанавливаем почему и как это происходит. Мы также упрощаем предложенную схему, представляя организм в виде отдельных блоков (кровь, орган-мишень, органы, элиминирующие препарат) — фармакокинетических камер, т. е. частей системы, в пределах каждого из которых распределение препарата предполагается равномерным.

Весьма важный этап — это формализация модели, т. е. составление уравнений, описывающих происходящие процессы. На схеме (см. рис. 31, а) каждый процесс, изображенный стрелкой, можно представить как мономолекулярную реакцию, скорость которой пропорциональна концентрации вещества. Заметим, что с точки зрения кинетики процессы транспорта веществ через мембраны тоже относятся к этой категории. Изменение концентрации вещества в блоках 2, 1 и 3 описывается обычными для кинетики дифференциальными уравнениями:

$$dc_1/dt = -k_{12}c_1, \quad (4.1)$$

$$dc_2/dt = -(k_4 + k_{23})c_2 + k_{32}c_3 + k_{12}c_1, \quad (4.2)$$

$$dc_3/dt = k_{23}c_2 - k_{32}c_3, \quad (4.3)$$

где  $c_1, c_2, c_3$  — концентрация вещества в соответствующем блоке модели.

Решение этих уравнений, т. е. нахождение функций  $c_1(t), c_2(t), c_3(t)$  представляет собой пятый этап математического моделирования.

В подавляющем большинстве случаев математического моделирования выясняется зависимость между переменными величинами ( $c$  и  $t$  в нашем примере). Формализовать задачу в виде системы дифференциальных уравнений, наподобие того, как мы сделали выше, обычно сравнительно несложно. Вся трудность в решении этой системы состоит в том, чтобы получить зависимость не производных, а самих первообразных функций друг от друга.

Всегда решаются, т. е. интегрируются, только дифференциальные уравнения первой степени, к которым и стараются свести путем преобразований и упрощений системы из нескольких таких уравнений.

Существует несколько распространенных приемов уменьшения числа дифференциальных уравнений в системе. Первый — это упрощение самой системы, например, путем объединения нескольких блоков в один или исключения несущественных элементов. Второй способ, называемый стационарным приближением Боденштейна — Семенова, заключается в том, что часть системы (скажем, блок 2 на рис. 31, а) рассматривается как стационарная; в этом случае, изменение функции во времени, т. е.  $dc_2/dt$  в нашем случае, считается равным нулю. Тогда одно из дифференциальных уравнений превращается в алгебраическое. В пределе можно считать стационарными концентрации вещества во всех промежуточных состояниях.

Если даже после введения всех разумных упрощений систему не удастся решить в общей форме, ее обычно можно решить в численном виде, используя ЭВМ.

Точное описание процессов в сложных системах требует соответственно сложных систем уравнений. Однако большую пользу приносит рассмотрение даже простых моделей доступных каждому исследователю. Рассмотрим в качестве примера, имеющего значение для медицинской практики, задачу о непрерывном введении лекарственного вещества с целью создания постоянной концентрации его в крови путем внутривенной или внутриаптериальной

инфузии (рис. 31, б). При непрерывном внутривенном введении препарата с постоянной скоростью  $Q$  изменение его количества в крови описывается уравнением:

$$dm/dt = Q - k_5 m, \quad (4.4)$$

где  $k_5$  — константа удаления препарата из крови.

Решая это уравнение интегрированием от 0 до  $t$  при условии, что  $m(0) = 0$ , находим:

$$\int_0^m \frac{dm}{Q - k_5 m} = \int_0^t dt, \quad -\frac{1}{k_5} \ln(Q - k_5 m) \Big|_0^m = t \Big|_0^t,$$

$$\ln \frac{Q - k_5 m}{Q} = -k_5 t, \quad (4.5)$$

откуда, потенцируя, получаем:

$$m = \frac{Q}{k_5} (1 - e^{-k_5 t}). \quad (4.6)$$

Для того чтобы перейти от количества препарата в крови к его концентрации —  $c$ , разделим обе части уравнения 4.6 на объем  $V$ , в котором распределяется препарат:

$$c(t) = \frac{Q}{Vk_5} (1 - e^{-k_5 t}). \quad (4.7)$$

Следующий этап — анализ полученных уравнений.

Анализ уравнения 4.7 показывает, что концентрация препарата в крови возрастает, асимптотически приближаясь к постоянному значению  $c_\infty = \frac{Q}{Vk_5}$  при  $t \rightarrow \infty$

(рис. 32). Отсюда следует, что для достижения желаемого уровня постоянной концентрации препарата в крови  $c^*$ , скорость введения препарата должна равняться  $Q = c^* Vk_5$ .

С другой стороны, скорость приближения к плато концентрации препарата в крови, определяемая членом  $e^{-k_5 t}$ , не зависит от скорости его введения (т. е. от  $Q$ ), а определяется только константой скорости выведения лекарства. Из этого вывода следует, что для быстрого достижения плато необходимо сочетать непрерывную инфузию препарата с начальным разовым введением нагрузочной дозы  $m_n$ . Уравнение фармакокинетики препарата, вводимого непрерывно (инфузия), после первоначального одномоментного введения (нагрузочная доза) выглядит как сумма этих двух составляющих:

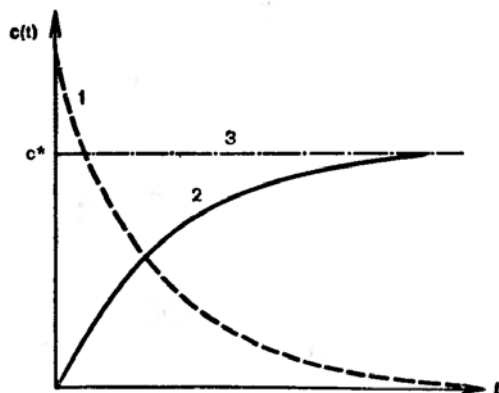


Рис. 32. Кинетика изменения концентрации препарата в крови:

1 — при однократном введении; 2 — при инфузии препарата с постоянной скоростью; 3 — при сочетании введения нагрузочной дозы и инфузии для мгновенного создания в крови желаемой концентрации препарата —  $c^*$ .

$$c(t) = \frac{Q}{Vk_b} (1 - e^{-k_b t}) + \frac{m_n}{V} e^{-k_b t} = \frac{Q}{Vk_b} - \frac{1}{V} \left( \frac{Q}{k_b} - m_n \right) e^{-k_b t}. \quad (4.8)$$

Из последнего уравнения видно, что конечный уровень концентрации препарата не зависит от величины нагрузочной дозы, а определяется только членом  $Q/Vk_b$ , так как при  $t \rightarrow \infty$   $e^{-k_b t}$  стремится к нулю.

Вместе с тем ясно, что скорость приближения к плато определяется членом  $Q/k_b - m_n$  и уровень плато будет достигнут мгновенно, если указанная разность равна 0, т. е. при условии:

$$m_n^* = Q/k_b = c^* V, \quad (4.9)$$

где  $m_n^*$  — нагрузочная доза, необходимая для создания  $c^*$  мгновенно.

Таким образом, для мгновенного создания в крови желаемой концентрации  $c^*$  необходимо ввести нагрузочную дозу  $m_n$  и вести инфузию со скоростью  $Q = c^* V k_b$ . Этот вывод, полученный при рассмотрении модели, был подтвержден экспериментально. Экспериментальное подтверждение выводов, предсказанных моделью, является решающей проверкой ее правильности.

Более сложные модели должны учитывать влияние всасывания препарата, его метаболизм, перенос и накопление в органе-мишени и т. д. Схемы уравнений в таких моделях строятся по типу суммирования блоков, подобных рассмотренным выше.

#### 4.3. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАК ЭТАП БИОФИЗИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Современная биофизика включает математическое моделирование как необходимый этап научного исследования. Типичная работа в области биофизики начинается с эксперимента, и получаемые экспериментальные данные подвергаются математической обработке (построение таблиц, графиков, гистограмм, подбор эмпирических формул для описания экспериментальных зависимостей). Этот материал служит основой для создания рабочей гипотезы.

Математическая модель, созданная на основе этой гипотезы, может правильно описывать поведение системы, хотя физические основы наблюдаемых в эксперименте и описываемых моделью процессов могут быть не раскрыты. Углубление исследований на втором этапе так или иначе связано с изучением молекулярного и клеточного строения изучаемых биологических систем. В конечном счете это позволяет сформулировать более содержательную структурно-функциональную модель работы данной клетки, ткани или органа. Конечной целью такого исследования является создание биофизической теории, которая позволяет объяснить свойства и поведение сложной биологической системы на основе знания физических принципов, лежащих в основе функционирования составляющих ее элементов. С примерами, иллюстрирующими роль моделирования в создании биофизических теорий, мы встретимся в последующих главах.

#### Глава 5

#### СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ МЕМБРАН

Рассматривая с помощью электронного микроскопа ультратонкий срез клетки, можно увидеть огромное количество тонких двойных линий толщиной от 7 до 10 нм, которые представляют собой срез через биологические мембраны.

Изучение структуры и функционирования биологических мембран — одна из наиболее развивающихся областей биофизики. Эта область имеет важное значение и для теоретической и для клинической медицины. Многие патологические процессы в клетке, включая такие, как



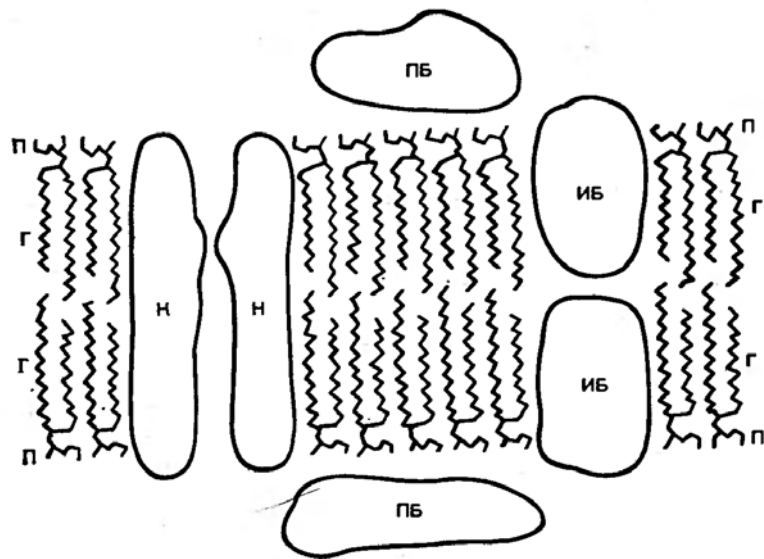


Рис. 33. Общая схема строения биологических мембран. Мембраны состоят из двойного слоя фосфолипидных молекул, каждая из которых имеет полярную головку (П) и неполярный, гидрофобный «хвост» (Г). ПБ — периферические белки, ИБ — интегральные белки. Пронизывая бислой, ИБ могут образовывать канал (пору) для ионов (К).

раковое перерождение, нарушение функционирования при атеросклерозе, нарушении диеты или тканевой гипоксии, повреждение при вирусных и бактериальных инфекциях, а также при интоксикациях и действии УФ- и ионизирующей радиации, — прямо или косвенно связаны с нарушением барьерной и структурной функции мембран. Действие многих лекарств направлено на изменение функции мембран, а эффективность лекарственных соединений зависит от их способности проникать через мембраны или связываться с ними.

### 5.1. СТРОЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Структурную основу любой биологической мембраны (рис. 33) как целого составляет фосфолипидный бимолекулярный слой; именно он выполняет в мембране функцию барьера для ионов и водорастворимых молекул и функцию основы, матрицы для мембранных ферментов, рецепторов и других встроенных в мембраны белков, гликолипидов и гликопротеидов.

Белки мембран могут либо находиться на поверхности липидного слоя, удерживаемые преимущественно электростатическими силами (*периферические белки*), либо проникать глубоко в липидный бислой или даже пронизывать его насквозь; в этом случае они связаны с липидами прочными гидрофобными взаимодействиями (*собственные или интегральные белки*). В плазматических мембранах большинства клеток к липидному бислою примыкает *гликокаликс*, состоящий из гликолипидов и гликопротеидов; в составе липидов плазматических мембран много холестерина.

Молекулы фосфолипидов, входящие в состав биологических мембран, обладают свойствами *амфифильности*, которое заключается в том, что часть молекулы полярна (а потому гидрофильна), а другая — неполярна (и гидрофобна). Это обусловлено особенностями химической структуры фосфолипидов, молекулы которых строятся из глицерина, жирных кислот, фосфорной кислоты и полярного соединения, характерного для каждого класса фосфолипидов (холин, этаноламин, серин и др.). По своей форме молекулы фосфолипидов напоминают сплюснутый цилиндр, около  $\frac{1}{4}$  которого (по длине) гидрофильна, а  $\frac{3}{4}$  — гидрофобна (рис. 34).

В водном растворе такие молекулы самопроизвольно собираются вместе так, что гидрофобные углеводородные цепи закрыты от воды, а полярные группы, наоборот, выставлены в воду; происходит образование сплошного бимолекулярного фосфолипидного слоя (бислоя). Липидные бислои, если они имеют достаточно большую протяженность, стремятся замкнуться сами на себя, чтобы спрятать гидрофобные участки фосфолипидных молекул от воды; в результате образуются фосфолипидные везикулы-липосомы (рис. 35). Таким образом, образование липидных мембран и везикул — самопроизвольный процесс, «самосборка», связанная с физико-химическими особенностями фосфолипидных молекул. В уже готовые фосфолипидные слои могут встраиваться белки.

Окисление одной из жирнокислотных цепей фосфолипида при свободнорадикальном процессе перекисного окисления или отщепление ее под действием фермента фосфолипазы  $A_2$  приводит к образованию молекулы, у которой размер «головки» в плоскости мембраны превышает размеры гидрофобной части: молекула по форме ближе уже не к цилиндрической, а к конической. Такие дефектные молекулы, собираясь вместе, образуют не бислой, а сфери-

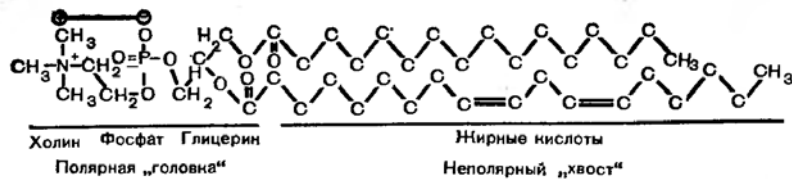
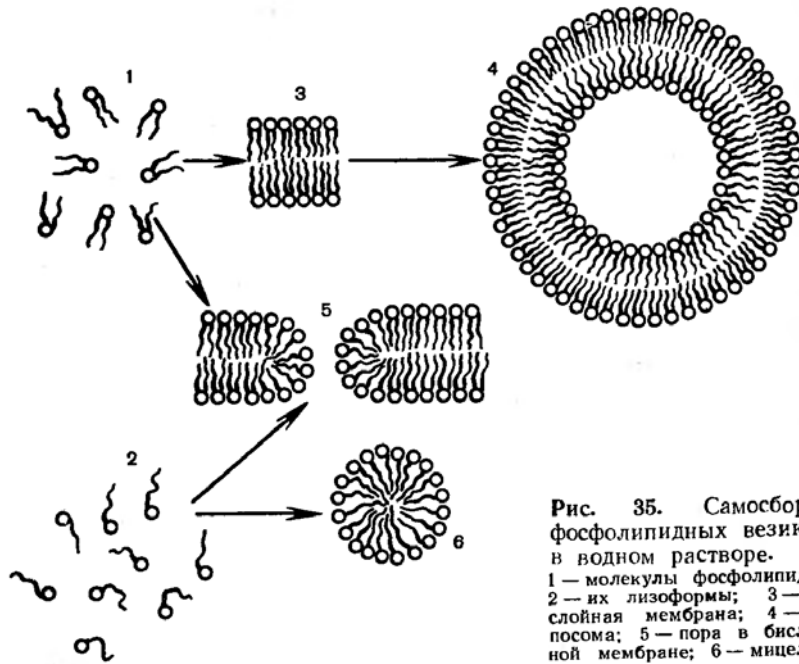


Рис. 34. Структура молекулы фосфатидилхолина (лецитина).

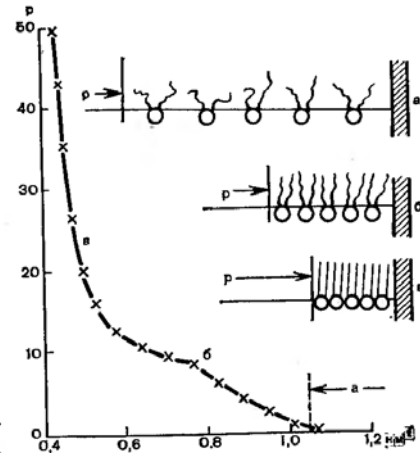


ческие мицеллы (см. рис. 35). Оказываясь в составе мембран, несколько таких молекул, сосредоточившись в одном месте, формируют пору, внутренняя часть которой образована полярными головками, а потому гидрофильна. Через такую пору могут проходить вода и ионы. В результате мембрана теряет свои барьерные свойства. Поэтому перекисное окисление липидов и действие фосфолипаз — процессы, ответственные за повреждение мембран при ряде заболеваний.

При изучении строения и функционирования биологических мембран, механизмов нарушения барьерных и структурных свойств липидного слоя и действия лекарст-

Рис. 36. Кривые давление — площадь монослоя дипальмитоилфосфатидилхолина на поверхности раздела вода/воздух.

а — область, соответствующая не взаимодействующим молекулам, б, в — области жидкокристаллического состояния липидов и состояния двумерного кристалла;  $p$  — давление (Н/м);  $A$  — площадь на молекулу (нм<sup>2</sup>).



венных препаратов на мембраны большую помощь исследователям оказали модельные системы. В первую очередь, это монослои фосфолипидов на поверхности раздела вода — воздух или вода — масло. На таких поверхностях молекулы фосфолипида выстраиваются в один слой, так что полярные группы находятся в воде, а гидрофобные — в воздухе или в масле (рис. 36).

С помощью прибора, основу которого составляют известные из курса физической химии весы Ленгмюра, измеряют поверхностное давление  $p$  (Н/м), которое необходимо приложить к пленке, чтобы сжать ее до определенных размеров; обычно затем рассчитывают площадь  $A$ , занимаемую одной молекулой липида в монослое. Между  $A$  и  $p$  для однородного монослоя существует зависимость:

$$A = A_0 - b/p, \quad (5.1)$$

где  $A_0$  — минимально возможная площадь молекулы в монослое при предельном сжатии ( $p \rightarrow \infty$ ).

Величина  $b$  характеризует эластичность (сжимаемость) монослоя: она выше в монослоях, приготовленных из фосфолипидов, в которых хотя бы одна жирная кислота ненасыщенная, чем в том случае, если обе жирные кислоты насыщенные.

Липидный бислой в биологических мембранах представляет собой как бы два монослоя на поверхности раздела: вода/липид. Молекулы в мембране испытывают боковое давление, обусловленное поверхностным натяжением на границе вода — липидная фаза в мембране. Величина этого давления такова, что каждая молекула лецитина

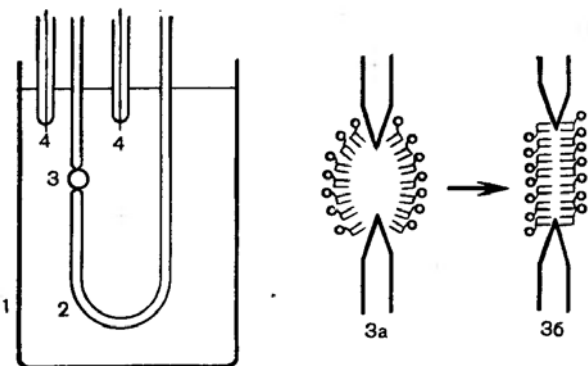


Рис. 37. Схема измерения электрических свойств модельных фосфолипидных бимолекулярных мембран (БЛМ).

1, 2 — стеклянный и тефлоновый стаканы; 3 — отверстие с введенной каплей раствора фосфолипида в гептане; 4 — электроды для измерения потенциала или тока; 3а, 3б — последовательные стадии формирования липидного бислоя при выходе растворителя гептана из капли в отверстию в тефлоновом стакане.

(фосфатидилхолина), содержащего обычно одну насыщенную и одну ненасыщенную жирную кислоту, занимает  $0,6-0,8 \text{ нм}^2$  на поверхности бислоя.

Изменения состояния липидных молекул, связанные с изменениями температуры, химической модификацией жирнокислотного «хвоста» или же с изменениями заряда головки, сопровождаются изменениями площади, занимаемой молекулами. К тому же результату приводит взаимодействие мембран с лекарственными препаратами, например с анестетиками. Поэтому изучение монослоев синтетических фосфолипидов и липидов, изолированных из тех или иных мембранных структур нормальной или патологически измененной клетки, широко применяется в биологических и медицинских исследованиях.

Вторая широко распространенная модель — плоские бислоиные фосфолипидные мембраны (БЛМ). Впервые такую мембрану создал в 1962 г. П. Мюллер со своими сотрудниками. Они поместили каплю раствора фосфолипидов в гептане в отверстие в тефлоновой перегородке, разделяющей два водных раствора (рис. 37). После того, как растворитель уходит из внутренней части капли, образуется бислой толщиной  $5-7 \text{ нм}$  и диаметром немногим более  $1 \text{ мм}$ . Поместив слева и справа от мембраны два электрода, можно измерять электрическое сопротивление мембраны или электрический потенциал, возникающий на мембране.

Этот прием позволил изучить ионную проницаемость мембран, а также генерацию электрического потенциала на мембране, в которую были встроены ионпереносящие белки. Модели мембран такого рода сыграли большую роль в выяснении механизма действия веществ — переносчиков ионов, например антибиотиков валиномицина и грамицидина, а также ряда других соединений, модифицирующих проницаемость мембраны, в том числе лекарственных препаратов и токсинов.

Третьей модельной системой, которая широко используется в настоящее время, являются *липосомы*. Так называют фосфолипидные пузырьки (везикулы), которые можно получить, например, путем встряхивания сухих фосфолипидов в водно-солевом буфере. При этом образуются многослойные липосомы; можно получить и однослойные липосомы, например, путем озвучивания суспензии многослойных липосом ультразвуком. Если липосомы приготовить в среде, содержащей какое-либо интересующее нас соединение, а потом удалить это соединение из среды, можно изучить скорость выхода веществ из везикул, т. е. измерить количественно проницаемость липидного слоя для данного соединения (см. главу 6).

Суспензия липосом — очень удобный объект для изучения структуры липидного бислоя, так как строение этого слоя близко в липосомах и биологических мембранах: в мембранах митохондрий, эндоплазматического ретикулума, плазматических мембранах разных клеток.

## 5.2. ФАЗОВЫЕ ПЕРЕХОДЫ В ЛИПИДНОМ БИСЛОЕ

Совокупность данных, полученных различными биофизическими методами, включая рентгеноструктурный анализ, измерение инфракрасных спектров поглощения и спектров комбинационного рассеяния, радиоспектроскопию и измерение люминесценции, теплоемкости (микроркалориметрия), позволяет заключить, что в биологических и модельных мембранах (липосомах и БЛМ) липидный бислой может находиться в двух состояниях: либо в состоянии *твердого* двумерного кристалла, либо в состоянии бимолекулярной жидкой пленки (*жидкокристаллическое* состояние). В дальнейшем для простоты мы будем говорить просто о твердом и жидком состояниях липидного бислоя в мембранах. В обоих состояниях сохраняется бимолекулярная структура липидной фазы, а молекулы фосфолипидов

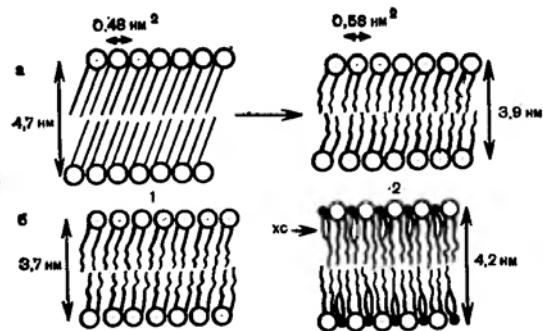
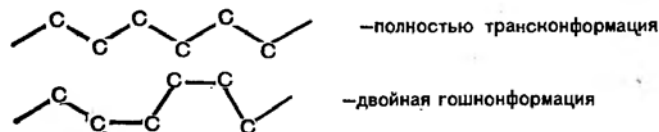


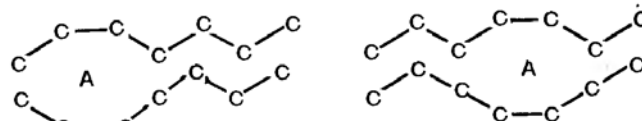
Рис. 38. Фазовый переход фосфолипидной мембраны из твердокристаллического (1) в жидкокристаллическое (2) состояние при повышении температуры (А) и влиянии холестерина (ХС) на структуру фосфолипидного бислоя (Б).

имеют плотную, гексагональную упаковку в плоскости мембраны. Но плотность этой упаковки все же различна в твердом и жидком состоянии: например, молекула фосфатидилхолина занимает в твердом бислое площадь  $0,46-0,48 \text{ нм}^2$ , а в жидком бислое —  $0,6-0,8 \text{ нм}^2$  (в зависимости от структуры жирных кислот). Соответственно изменяется толщина бислоя: в жидком состоянии она меньше, чем в твердом (рис. 38). Жидкое и твердое состояние бислоя различается и по многим другим характеристикам: вязкости липидной фазы, растворимости различных веществ в липидной фазе. Молекулярная основа этих различий — различия в конформации жирнокислотных цепей. Отдельная жирнокислотная цепь может принимать множество различных конфигураций благодаря возможности вращения вокруг одинарных С—С-связей. В липидном бислое благодаря плотной упаковке молекул реализуются преимущественно две плоские конформации углеводородной цепи:



В твердом бислое, как показали данные рентгеноструктурного анализа монокристаллов фосфолипидов, все молекулы фосфолипида имеют полностью трансконформацию

углеводородных цепей жирных кислот. Подвижность таких цепей, естественно, ограничена: они могут совершать лишь небольшие согласованные колебания или вращательное движение (прецессию) около точки прикрепления жирных кислот к полярной группе. В жидком бислое возможны тепловые движения жирнокислотных цепей, сопровождающиеся транс-гошпереходами. Расположенные рядом, гошконформации могут образовывать полости в бислое (так называемые кинки — от английского слова kink — петля), в которых могут находиться различные молекулы, захваченные из окружающего раствора. Изменения конформации цепей будут приводить к движению такого «кинка», а вместе с ним и находящихся в нем молекул вдоль цепи (т. е. поперек мембраны) или между цепями (т. е. в плоскости мембраны):



Перенос молекулы А в результате диффузии «кинна»

Очевидно, что чем выше подвижность жирнокислотных цепей в мембране, тем меньше сопротивление диффузии молекул через липидный слой, т. е. тем ниже микровязкость мембраны.

Будет ли состояние данного бислоя жидким или твердым, зависит от химического состава липидов, формирующих бислои, числа заряженных групп, приходящихся на единицу поверхности мембраны, и температуры. Для изучения фазовых переходов в опыте обычно изменяют температуру образца и следят за изменением какой-либо характеристики, различающейся у твердой и жидкой мембраны. Такой характеристикой могут быть растворимость веществ в мембране, спектры комбинационного рассеяния, светорассеяние суспензии, форма сигналов ЭПР свободных радикалов в липидной фазе (спиновых зондов), интенсивность или спектр флуоресценции флуоресцентных зондов и т. д.

Соотношение жидкой и твердой фазы в липидном бислое изменяется при нагревании. Температура, при которой половина молекул фосфолипидов в системе входит в твердый бислои, а половина — в жидкий, называется *темпе-*

ратурой фазового перехода, или температурой плавления ( $T_c$ ).  $T_c$  синтетических фосфолипидов, содержащих две насыщенные жирные кислоты в каждой молекуле, выше  $0^\circ\text{C}$ .  $T_c$  фосфолипидов, в состав которых входит хотя бы одна ненасыщенная жирная кислота (что характерно для биологических мембран), находятся в области отрицательных температур по шкале Цельсия. Таким образом, в функционирующих биологических мембранах липидный слой находится в жидком состоянии. При охлаждении органов, тканей и отдельных клеток до температур ниже  $-10$ — $-30^\circ\text{C}$  в мембранах происходит последовательное «вымораживание» тех липидов, для которых  $T_c$  оказывается выше температуры окружающей среды. Образующиеся твердые участки липидного слоя («домены») имеют иной химический состав, чем жидкие участки; растворенные в липидной фазе мембран низкомолекулярные соединения и белки вытесняются при этом в жидкокристаллические области мембраны. Такое явление *разделения фаз* и последующая полная кристаллизация липидного слоя могут сопровождаться необратимыми изменениями в мембранах и явиться одним из факторов, снижающих жизнеспособность клеток при консервации клеток и тканей методом глубокого охлаждения.

Фазовые переходы представляют собой кооперативный процесс, т. е. процесс, который происходит одновременно в участке мембраны, содержащей несколько фосфолипидных молекул, по закону «все или ничего». Число молекул, входящих в такой участок, называют размером *кооперативной единицы*. Изучение фазовых переходов и оценка размеров кооперативных единиц при плавлении фосфолипидных бислоев осуществляются в настоящее время преимущественно методом микрокалориметрии. С помощью прибора, называемого дифференциальным сканирующим микрокалориметром, измеряют теплоемкость суспензии фосфолипидов (в качестве образца сравнения берут соответствующий водный раствор) при разных температурах в области фазового перехода. Типичная кривая температурной зависимости теплоемкости для синтетического липида дистеароилфосфатидилхолина приведена на рис. 39. В области фазового перехода происходит резкое возрастание теплоемкости, максимум на кривой соответствует  $T_c$ . Площадь под кривыми, приведенными на рис. 39, указывает общее количество тепла  $\Delta Q$ , поглощаемого при переходе из твердого состояния липидного слоя в жидкое. Зная количество

Рис. 39. Влияние холестерина на выраженность фазового перехода в суспензии липосом из дистеароилфосфатидилхолина.

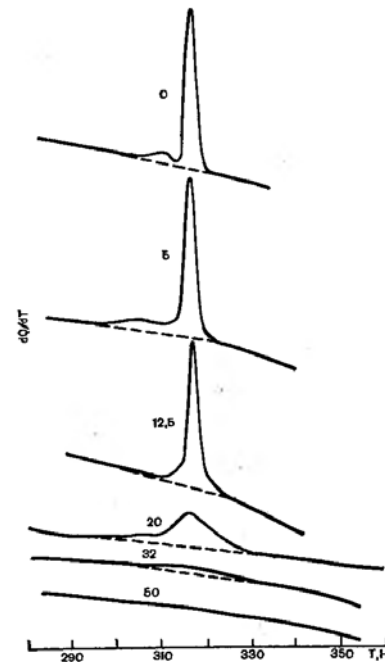
Цифры у кривых — содержание холестерина в молярных процентах. 50% холестерина содержится обычно в липидной фазе клеточных (плазматических) мембран.  $dQ/dT$  — теплоемкость;  $T$  — температура.

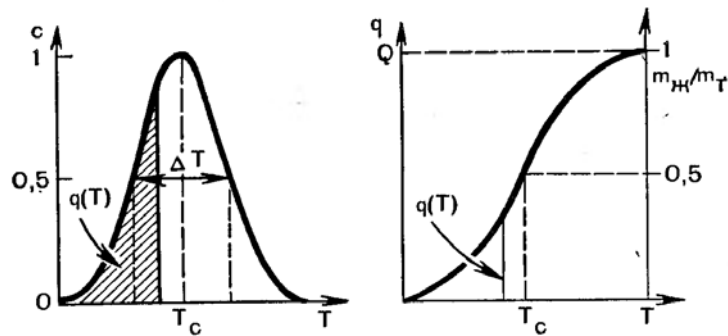
$m$  фосфолипида в пробе (в молях), можно рассчитать молярную энтальпию плавления:

$$\Delta H = \Delta Q/m. \quad (5.2)$$

По уравнению 1.2 можно найти изменение энтропии при плавлении. Для температурной точки  $T_c$  ( $\Delta G = 0$ )  $\Delta S = \Delta H/T_c$ . Эта величина возрастает с ростом длины углеводородной цепи жирных кислот, причем на каждую новую метиленовую группу приходится примерно постоянное увеличение энтропии при фазовом переходе. На каждый моль  $\text{CH}_2$ -групп прирост энтропии при плавлении составляет около  $2,9 \text{ Дж/К}$ , а на каждую отдельную  $\text{CH}_2$  группу —  $4,8 \cdot 10^{-24} \text{ Дж/К}$ . Уравнение 1.1 позволяет нам найти теперь изменение числа микросостояний группы  $\text{CH}_2$  при фазовом переходе  $\omega_2/\omega_1 = 1,4$ . Получается, что в среднем количество возможных состояний каждой метиленовой группы при плавлении возрастает почти в полтора раза, т. е. упорядоченность в упаковке углеводородных цепей липидов в мембране заметно уменьшается.

Знание  $\Delta H$  позволяет найти размеры кооперативной единицы  $n$ . Для этого сначала требуется найти энтальпию плавления моля кооперативных единиц  $\Delta H_n$ . Это можно сделать, если нам известно соотношение количества липидов, находящихся при каждой данной температуре в жидком и твердом состоянии ( $m_{\text{ж}}/m_{\text{т}}$ ), используя уравнение Вант-Гоффа (1.11). Определение  $m_{\text{ж}}/m_{\text{т}}$  может осуществляться многими методами, в том числе и по самим кривым

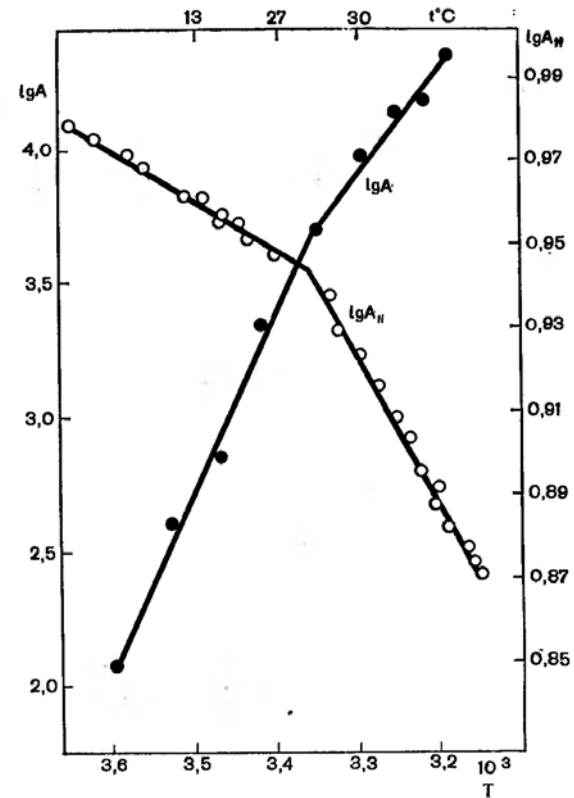




**Рис. 40.** Расчет характеристик фазового перехода в липидах по данным дифференциальной сканирующей калориметрии. Слева — зависимость теплоемкости от температуры,  $c$  — теплоемкость в условных единицах;  $\Delta T$  — полуширина фазового перехода;  $T_c$  — температура плавления. Заштрихованная площадь равна  $q$ , эта величина зависит от  $T$ . Справа — зависимость  $q$  от  $T$ , построенная по данным графика, слева  $\Delta Q$  — теплота плавления. Ординаты  $q(T)$  на графике справа равны площадям  $q(T)$  слева.  $m_{ж}/m_{т}$  — количественные отношения липида в жидкой и твердой фазах.

зависимости теплоемкости  $c$  от температуры  $T$ . Площадь под такой кривой от начала фазового перехода  $T_1$  до данной температуры  $T$   $q = \int_{T_1}^T c dT$  пропорциональна количеству молекул, уже претерпевших фазовый переход, т. е.  $m_{ж}$ , а отношение  $q/\Delta Q = m_{ж}/(m_{ж} + m_{т})$  (рис. 40). Величина  $q/(\Delta Q - q) = m_{ж}/m_{т}$  при всех температурах во всем интервале фазового перехода. Найдя величину  $m_{ж}/m_{т}$  (этим или иным методом), откладывают на графике  $\ln(m_{ж}/m_{т})$  как функцию обратной абсолютной температуры  $1/T$  и находят  $\Delta H_{ж}$  из углового коэффициента прямой, который равен  $-\Delta H_{ж}/R$  (см. уравнение 1.11). Число молекул  $n$  в кооперативной единице равно  $n = \Delta H_{ж}/\Delta H$ . В липидных мембранах это число может составлять несколько десятков. Чем однороднее мембрана по химическому составу, тем больше размеры кооперативных единиц. Например, введение холестерина в фосфолипидные мембраны нарушает кооперативный характер фазовых переходов, а различия между твердым и жидким состоянием липидного бислоя стираются; это позволяет говорить о «пластифицирующем» действии холестерина на липидный бислой.

В биологических мембранах генерализованные кооперативные переходы были впервые изучены советским био-



**Рис. 41.** Температурная зависимость подвижности жирнокислотных цепей в мембране саркоплазматического ретикулума и активности  $\text{Ca}^{2+}$  — АТФ-азы.  $A$  — активность АТФ-азы в условных единицах;  $A_{н}$  — подвижность жирнокислотных цепей по данным ЭПР (см. рис. 46). Излом кривых указывает на структурную перестройку мембраны.

физиком С. В. Коневым и сотрудниками. Казалось бы, в жидком липидном бислое, который характерен для биологических мембран, нагревание и другие градуальные воздействия, например постепенное изменение рН или солевого состава среды, должны вызывать лишь плавные изменения свойств липидной фазы. В действительности же были обнаружены критические точки, при которых наблюдается скачкообразное изменение характеристик липидного бислоя и мембранных белков, например, резко изменяется вязкость мембраны, энергия активации ферментативных реакций и т. д. (рис. 41). Природа этих яв-

лений до конца еще не выяснена, но они, несомненно, важны для регуляции процессов, протекающих в функционирующих биологических мембранах.

### 5.3. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАНЫ КАК ФАЗЫ

Проницаемость мембран для различных веществ, работа мембранных ферментов и рецепторов непосредственно зависят от физических свойств липидной фазы в биологических мембранах: поверхностного заряда и межфазного скачка потенциала, вязкости и способности растворять в себе различные соединения.

Поверхностный заряд мембраны создается заряженными фосфолипидами, например фосфатидилсеринном, а также гликолипидами и гликопротеидами, которые придают мембранам преимущественно отрицательный заряд. Наличие заряда важно для стабильности мембранных структур (которые при нейтрализации зарядов начинают слипаться друг с другом), а также для связывания органических и неорганических ионов. Если поверхностная концентрация одновалентных заряженных групп равна  $\sigma$  кмоль/м<sup>2</sup>, то на границе мембрана — вода создается *межфазный скачок потенциала* того же знака, что и заряд на мембране. Величина этого межфазного потенциала  $\psi_s$  связана с  $\sigma$  уравнением Гуи — Чепмена, которое в системе СИ имеет вид

$$\sigma^2 = \frac{N_A^2 RT \epsilon c}{2\pi F^2} (e^{\psi_s} + e^{-\psi_s} - 2) \quad (5.3)$$

где  $R$  — газовая постоянная,  $F$  — число Фарадея,  $N_A$  — число Авогадро,  $c$  — молярная концентрация одновалентного электролита в среде (скажем KCl или NaCl),  $\epsilon$  — абсолютная диэлектрическая проницаемость, равная произведению относительной диэлектрической проницаемости (для воды она равна приблизительно 80) на электрическую постоянную  $\epsilon_0$ ;  $\psi_s$  — потенциал в безразмерной форме, пропорциональный потенциалу  $\psi_s$  в вольтах (см. уравнение 1.8). При анализе уравнения 5.3 становится ясно, что чем больше  $\sigma$ , тем выше  $\psi_s$ .

Величина межфазного потенциала (называемого иногда *поверхностным потенциалом*) имеет большое значение для связывания ионов мембраной. Изменение свободной энергии при связывании 1 моля иона равно (см. уравнение 1.4)

$$\Delta\mu = (\mu_M^0 - \mu_B^0) + RT \ln \frac{c_M}{c_B} + zF\psi_s \quad (5.4)$$

где  $c_M$  и  $c_B$  — концентрация иона в мембранной и водной фазах. В равновесии, когда  $\Delta\mu = 0$ , а  $c_M/c_B = K$ , получаем:

$$-RT \ln K = \Delta\mu_0 + zF\psi_s \text{ откуда } K = e^{-\Delta\mu_0/RT} e^{-z\psi_s F/RT} \quad (5.5)$$

Первый множитель в этом произведении представляет собой коэффициент распределения  $\gamma$  иона между мембранной и водной фазами в отсутствие мембранного потенциала. Действительно, при  $\psi_s = 0$  второй множитель равен единице и  $K = \gamma$ . Компактная запись уравнения 5.5 выглядит так:  $K = \gamma e^{-\psi_s}$ .

Между коэффициентом распределения и константой связывания иона  $K_c$  существует прямая пропорциональность, а именно  $K_c = K[M]$ , где  $[M]$  — число молей свободных центров связывания в единице объема мембранного материала (см. уравнения связывания 3.5 — 3.7). Отсюда сразу становится ясной зависимость константы связывания от межфазного потенциала:

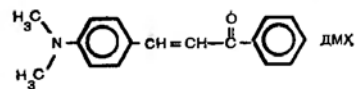
$$K_c(\psi) = K_c(0) e^{-\psi_s}, \quad (5.6)$$

где  $K_c(0)$  — константа связывания в отсутствие межфазного потенциала.

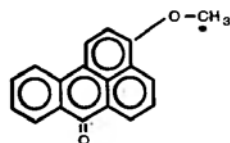
Экспериментальное изучение поверхностного потенциала мембран и его изменения в патологии или при действии лекарственных препаратов, например местных анестетиков, может проводиться рядом методов, включая метод флюоресцентных зондов.

*Флюоресцентный зонд* (рис. 42) представляет собой флюоресцирующую молекулу, которая находится в липидном слое мембраны или же адсорбируется на ее поверхности. Параметры флюоресценции зонда (см. с. 36) зависят от свойств непосредственного окружения молекул зонда в мембранах: вязкости, полярности среды, близости заряженных групп, наличия различных молекул — акцепторов энергии электронного возбуждения, а также от диффузии молекул — тушителей флюоресценции, в частности воды.

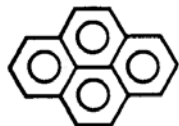
Важной характеристикой мембраны может служить распределение зонда между мембраной и окружающей водной средой. Это распределение зависит от потенциала поверхности мембраны  $\psi_s$ , если сам зонд заряжен, и от



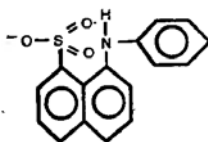
ДМХ



МБА



Пирен



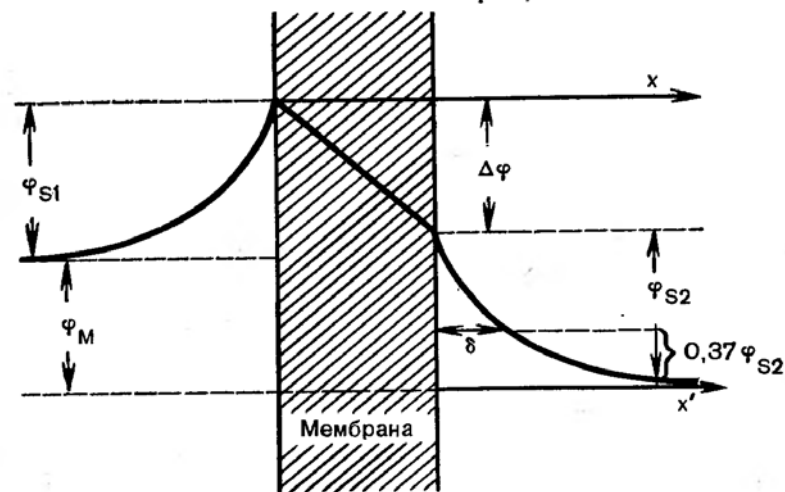
АНС

Рис. 42. Структура некоторых флуоресцентных зондов, применяемых при изучении биологических мембран.

ДМХ — диметиламинохалкон; МБА — 3-метоксбензотрон; АНС — 1-анилино-8-нафталин-сульфонат.

Рис. 43. Изменение электрического потенциала вблизи мембраны и в самой мембране.

$x$  — координата, начало которой выбрано у левой границы мембраны с водной средой;  $x'$  — координата с началом у правой границы мембраны;  $\Phi_{S1}$ ,  $\Phi_{S2}$  — межфазные скачки потенциала;  $\Delta\Phi$  — изменение потенциала внутри мембраны;  $\Phi_M$  — мембранный потенциал (разность потенциалов между водными фазами по обе стороны мембраны).



сродства зонда к мембране ( $\Delta\mu_0$  в уравнении 5.5). Например, применяя отрицательно заряженный зонд АНС (1-анилино-8-нафталинсульфонат), можно изучать изменение поверхностного потенциала мембран  $\Phi_S$ , так как флуоресцирует только связанная с мембраной форма этого красителя и общая интенсивность флуоресценции системы увеличивается с увеличением  $\Phi_S$ .

Поверхностный потенциал мембран влияет также и на связывание ионов, например кальция. При этом измерение связывания кальция мембранами можно проводить с помощью другого флуоресцентного зонда — антибиотика тетрациклина, поскольку комплекс кальция с тетрациклином в липидном окружении обладает более яркой флуоресценцией, чем со свободным тетрациклином в водной фазе.

Не следует думать, что межфазный скачок потенциала  $\Phi_S$  происходит непосредственно на границе раздела вода/мембрана:  $\Phi_S$  — это разность потенциалов между фазами, но не между пограничными слоями. Изменение потенциала от границы раздела в глубину водной и мембранной фаз происходит плавно (рис. 43). По мере удаления от границы раздела (т. е. с ростом  $x^1$  на рис. 43) потенциал уменьшается приблизительно по экспоненте:

$$\varphi = \varphi_0 e^{-x'/\delta}, \quad (5.7)$$

где  $\varphi_0$  — потенциал на границе ( $x^1 = 0$ ), а  $\delta$  — так называемый радиус экранировки Дебая. Физический смысл  $\delta$  — это расстояние, на котором  $\varphi$  уменьшается в  $e$  раз (если  $x^1 = \delta$ , то  $\varphi = \varphi_0/e$ ). Величина  $\delta$  характеризует толщину двойного электрического слоя ионов у границы раздела и зависит от суммарной концентрации ионов в среде и их заряда ( $\sum z_j^2 c_j$ ), а также от относительной диэлектрической проницаемости среды  $\epsilon_r$ :

$$\delta = \sqrt{\frac{RT\epsilon_0\epsilon_r}{F^2 \sum z_j^2 c_j}}, \quad (5.8)$$

где  $z_j$  — заряд каждого из ионов, а  $c_j$  — его концентрация.

В случае одновалентного электролита с концентрацией  $c$  (моль/л) при  $37^\circ\text{C}$   $\delta = 3,5 \cdot 10^{-11} \sqrt{\epsilon_r/c}$  (м). Для раствора NaCl в воде с концентрацией  $0,15\text{ M}$   $\epsilon_r \approx 80$  и  $\delta = 0,8\text{ нм}$ , что составляет около одной десятой толщины мембраны. С другой стороны, из-за низкой растворимости ионов в мембранной фазе  $\delta$  внутри мембраны измеряется сотнями нанометров и значительно превышает толщину самой мембраны. Это означает, что ионы, растворенные в липидном слое, оказывают небольшое влияние на величину потенциала в той или иной точке, и мембрана в целом по своим свойствам напоминает конденсатор, обкладки которого образованы растворами электролита у поверхностей мембраны, а роль диэлектрика выполняет липидный слой.



Емкость такого конденсатора  $C$  для биологических мембран колеблется в интервале  $(0,5-1,3) \cdot 10^{-2}$  S (Ф), где  $S$  — площадь мембраны ( $m^2$ ).

Толщина слоя диэлектрика (липидного гидрофобного слоя) в мембране  $l$  может варьировать в пределах  $0,4-0,9$  нм, откуда по формуле конденсатора  $C = \epsilon_0 \epsilon_r S/l$  находим диэлектрическую проницаемость липидного слоя  $\epsilon_r = 2,3-13,2$ . Наиболее точные оценки диэлектрической проницаемости липидного бислоя дают для гидрофобной части бислоя значения  $\epsilon_r = 2,0-2,2$ , а для гидрофильной зоны мембран — около  $10-20$ . Из физики известно, что между обкладками конденсатора, заполненного однородным диэлектриком, напряженность электрического поля  $E$  постоянна. С другой стороны, известно, что если потенциал изменяется только вдоль оси  $x$ , то  $E = -d\varphi/dx$ . В случае мембран ось  $x$  нормальна к плоскости мембраны, а ее начало принято помещать на границе раздела вода — мембрана (см. рис. 43). Учитывая сказанное, мы можем записать:

$$-E = d\varphi/dx = \Delta\varphi/\Delta x, \quad (5.9)$$

где  $\Delta\varphi$  — разность потенциалов между границами мембраны, а  $\Delta x = l$  — толщина мембраны. На рис. 43 видно, что разность потенциалов  $\varphi_m$  между водными фазами по две стороны мембраны связана с межфазными скачками потенциала у двух поверхностей —  $\varphi_{S1}$  и  $\varphi_{S2}$  и величиной  $\Delta\varphi$  соотношением:

$$\varphi_m + \varphi_{S1} = \Delta\varphi + \varphi_{S2} \text{ при } \varphi_{S1} = \varphi_{S2}, \varphi_m = \Delta\varphi. \quad (5.10)$$

Таким образом, в случае симметричной мембраны, для которой межфазные скачки потенциала у обеих поверхностей равны, справедливы уравнения 5.9 и 5.10, откуда:

$$d\varphi/dx = \varphi_m/l. \quad (5.11)$$

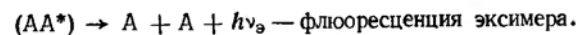
С этим выражением мы встретимся в главе 6 при выводе уравнения ионных потоков через мембрану.

Распределение электрического потенциала в мембране и у ее границ можно считать главным фактором, определяющим направление и скорость переноса ионов через мембрану. В частности, разность потенциалов  $\Delta\varphi$  — основная движущая сила переноса ионов через мембрану. Действительно, как показывает уравнение 1.19, величина ионного потока определяется производной  $d\varphi/dx$ , которая, как мы видели, пропорциональна  $\Delta\varphi$ . С другой стороны,

поток пропорционален концентрации ионов в мембране, которая зависит от  $\varphi_S$  (см. уравнение 5.5). Третий сомножитель в уравнении для потока 1.19 — подвижность ионов ( $u$ ) зависит от вязкости липидной фазы мембран, к рассмотрению которой мы теперь перейдем.

Несколько условно липидную фазу мембран можно рассматривать как жидкую среду с определенной вязкостью, от которой зависит скорость поступательного и вращательного движения молекул (в том числе мембранных белков и ионов) и которая поэтому регулирует проницаемость мембран и скорость протекающих в них ферментативных реакций. Предложено много методов оценки вязкости среды в липидной фазе мембран (так называемой микровязкости мембран). Один из наиболее доступных методов основан на измерении поляризации флуоресценции красителя (зонда), растворенного в липидной фазе.

Зависимость коэффициента поляризации  $P$  от вязкости окружения  $\eta$  описывается уравнением Перрена (2.12), приведенным в главе 2. Если известны другие параметры в этом уравнении, можно найти  $\eta$ , зная  $P$ . Другой метод оценки микровязкости основан на измерении эксимеризации флуоресцентного зонда пирена (рис. 44). В достаточно концентрированном растворе этого зонда молекулы (A), перешедшие в возбужденное состояние (A\*) в результате поглощения фотона, могут затем, сталкиваясь с не возбужденными молекулами зонда, образовывать короткоживущие комплексы — эксимеры (AA\*), максимум флуоресценции которых отличается от максимума мономерных молекул:



Образование эксимеров зависит от вязкости среды: в вязкой среде молекулы движутся медленнее, и вероятность столкновения молекул за время жизни возбужденного состояния невелика. Между степенью эксимеризации и вязкостью имеется обратная зависимость:

$$\frac{k_3 c}{k_3^0 c_0} = \frac{\eta_0}{\eta}, \text{ причем } k_3 = \frac{I_s}{I_m}, \quad (5.12)$$

где  $\eta_0$  — вязкость стандартного раствора,  $\eta$  — микровязкость липидов в мембранах,  $c_0$  и  $c$  — концентрация зонда в стандартном растворе и в мембране,  $k_3^0$  и  $k_3$  — коэффи-

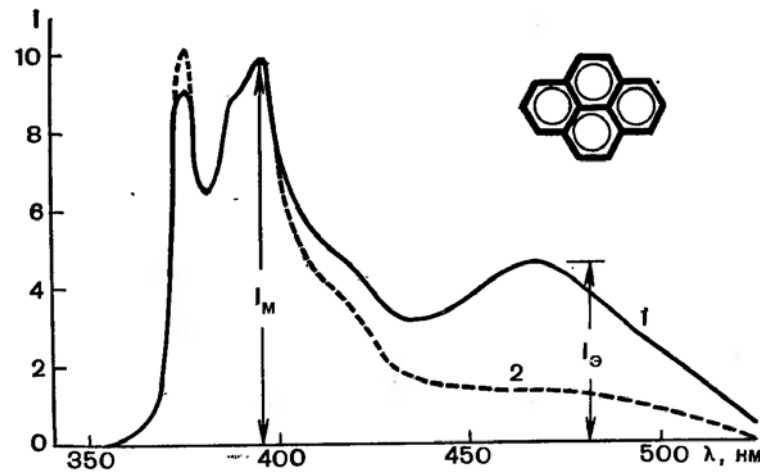


Рис. 44. Изменение спектров флюоресценции пирена в зависимости от вязкости окружения. 1 — спектр в мембранах без холестерина; 2 — спектр в мембранах, содержащих много холестерина;  $I_M$ ,  $I_3$  — интенсивность флюоресценции мономеров и эксимеров пирена (соответственно).

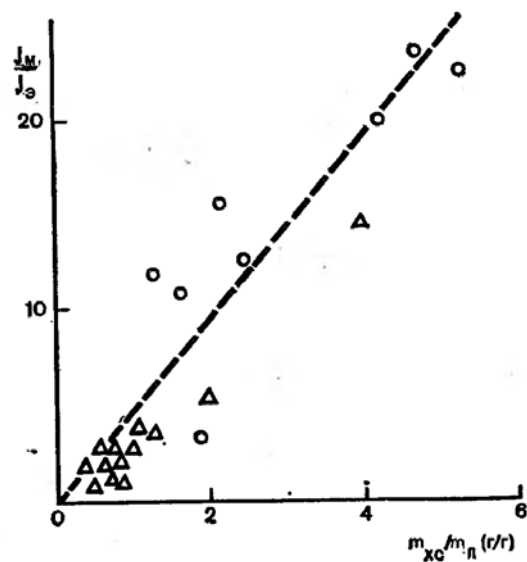


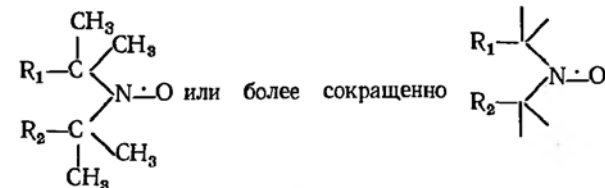
Рис. 45. Зависимость вязкости липидной фазы  $\beta$ -липопротеидов плазмы крови человека от содержания в них холестерина. Кружочками обозначены липопротеиды низкой плотности, треугольниками — очень низкой плотности;  $m_{\text{хс}}$ ,  $m_{\text{л}}$  — массы холестерина и липидов в  $\beta$ -липопротеидах;  $I_M$ ,  $I_3$  — интенсивность флюоресценции мономеров и эксимеров пирена (соответственно) (см. рис. 44).

циенты эксимеризации,  $I_3$  и  $I_M$  — интенсивность флюоресценции в максимумах эксимера и мономера (см. рис. 44).

Используя флюоресцентные зонды, можно изучать вязкость не только мембран, но и липидов в липопротеидах плазмы крови. При повышенном содержании холестерина в плазме крови вязкость липопротеидов увеличивается (рис. 45). Это приводит к ряду нарушений метаболизма липидов плазмы, которые характерны для болезней сердечно-сосудистой системы, связанных с гиперхолестеринемией.

#### 5.4. ИЗМЕРЕНИЕ ПОДВИЖНОСТИ ЛИПИДНЫХ МОЛЕКУЛ В МЕМБРАНАХ МЕТОДАМИ РАДИОСПЕКТРОСКОПИИ

Изучение подвижности жирнокислотных цепей фосфолипидов и самих липидных молекул в биологических мембранах осуществляется в настоящее время главным образом методами радиоспектроскопии: электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР). В первом из этих методов измеряют сигналы ЭПР, даваемые спиновыми метками и спиновыми зондами. Основу спиновых меток и зондов составляет стабильный свободный *иминоксильный радикал*, имеющий такую структуру:



где  $R_1$  и  $R_2$  — различные химические группировки.

Если производное иминоксильного радикала присоединяют к белку или липиду ковалентной связью, то такое производное называется *спиновой меткой*. Если молекула (например, спинмеченный фосфолипид или спинмеченный холестерин) встраивается в белковую молекулу или в липидный бислой мембран и там удерживается не ковалентными связями, а с помощью электростатических сил или гидрофобных взаимодействий, то такая молекула называется *спиновым зондом*. Форма сигнала ЭПР, даваемого спиновой меткой или зондом, зависит от микроокружения иминоксильного радикала и в первую очередь от вращатель-

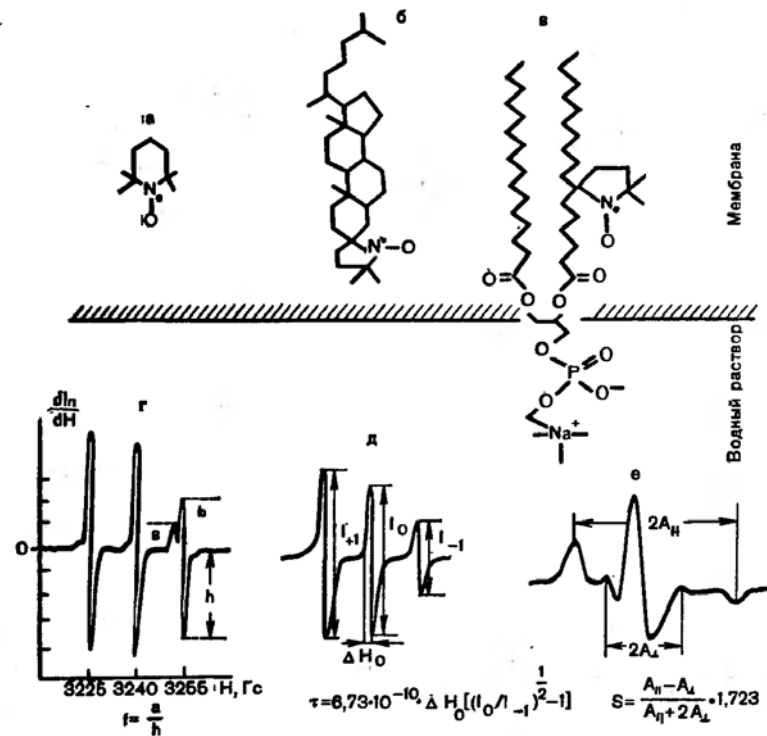


Рис. 46. Метод спиновых зондов при изучении биологических мембран.

а—в — формулы некоторых спиновых зондов; г — сигнал ЭПР зонда (а) в суспензии мембран (отношение  $f = a/h$  характеризует распределение зонда между липидной и водной фазами); д — сигнал ЭПР зонда (б) ( $\tau$  — время корреляции); е — сигнал зонда (в) (величина  $2A_H$  характеризует подвижность углеводородных «хвостов» в мембране; она уменьшается с увеличением подвижности); S — параметр упорядоченности.

ной подвижности той группы (или молекулы в целом), в состав которой он входит. В среде с низкой вязкостью небольшие молекулы спиновых зондов, например зонд, изображенный на рис. 46, а, дают сигнал ЭПР. Этот сигнал состоит из трех узких полос, так как неспаренный электрон находится в магнитном поле, на которое накладывается магнитное поле ядра азота, обладающего спиновым числом, равным 1. Теория ЭПР и прямые эксперименты показывают, что, если вращение зонда заторможено, сигнал расплывается (рис. 46, е).

Метод спиновых зондов имеет множество модификаций. Рассмотрим, например, применение зондов, изображенных

на рис. 46. Зонд (а) имеет небольшие размеры, поэтому скорость его вращательной диффузии достаточно велика не только в водном растворе, но и в липидной фазе мембраны; спектр ЭПР этого зонда в обоих случаях состоит из трех узких линий. Однако положение третьего максимума сигнала (соответствующего наибольшей напряженности магнитного поля) различно для зонда, растворенного в воде, и зонда, включенного в мембрану. Амплитуда  $a$  на рис. 46, г пропорциональна содержанию зонда в мембране, а амплитуда  $b$  — содержанию зонда в воде. Величина  $f = a/(a + b) = a/h$  (рис. 46, г) показывает, какая часть всего зонда в системе находится в связанном с мембраной состоянии и носит название *параметра солюбилизации*.  $f$  для липидных мембран в жидком состоянии в 6—7 раз выше, чем в твердом. На этом основано использование этой величины для определения  $m_{ж}/m_{т}$  при изучении фазовых переходов в липидном слое мембран. В биологических мембранах даже небольшие изменения в структуре липидного бислоя обычно отражаются на величине  $f$ , поэтому ее измерение широко используют для изучения изменений структуры мембран в патологии, а также под действием лекарств и других биологически активных соединений.

Вращательная диффузия более крупных зондов, например зонда б, который представляет собой производное холестерина, заторможена в липидном слое довольно сильно, отчего спектры таких зондов сильно изменены по сравнению со спектром зонда а (см. рис. 46). Теория метода ЭПР дает формулы, по которым можно на основании таких параметров спектра, как относительная величина максимумов и расстояние между ними, рассчитать время  $\tau$ , затрачиваемое в среднем на поворот молекулы на один радиан; это время прямо пропорционально микровязкости мембраны. Этим методом была измерена микровязкость липидного слоя в мембранах эритроцитов, нервных волокон, митохондрий, саркоплазматического ретикулума и др. Она оказалась равной 30—100 мПа · с, т. е. близкой к вязкости подсолнечного масла (напомним, что вязкость воды равна примерно 1 мПа · с). Так, было установлено, что липидный бислой по своей консистенции — жидкость, в которой легко происходит диффузия молекул. Как уже говорилось, микровязкость мембран изменяется при многих видах патологии, а также при действии на мембраны биологически активных соединений. С этим связывают

надежды применения метода спиновых зондов в клинической диагностике и при создании новых лекарственных средств.

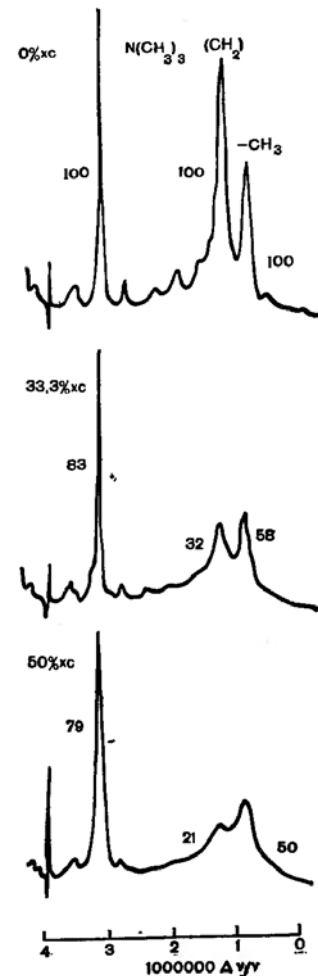
В последнее время в биофизических исследованиях широко используются спинмеченные жирные кислоты и синтезированные на их основе фосфолипиды (например, зонд *b* на рис. 46). Молекулы этих соединений встраиваются в липидный бислой наравне с молекулами составляющих его фосфолипидов; подвижность метки характеризует поэтому подвижность соответствующего участка «средней» фосфолипидной молекулы в данном бислое. Можно синтезировать метки, прикрепленные к разным участкам углеводородной цепи или к полярной «головке» фосфолипида, и тогда по форме сигнала ЭПР оценивать подвижность соответствующих частей фосфолипидной молекулы. Одной из количественных характеристик подвижности при этом может служить так называемый *параметр упорядоченности* ( $S$ ), который показывает, во сколько раз вращение молекулы вокруг ее продольной оси (которая приблизительно перпендикулярна плоскости мембраны) быстрее вращения спинмеченного участка молекулы вокруг оси, лежащей в плоскости мембраны. Для плотно упакованных бислоев  $S$  велико, а при снижении вязкости мембран  $S$  уменьшается, поскольку углеводородные цепи получают возможность не только вращаться вместе со всей молекулой вокруг ее длинной оси, но и скручиваться. Использование зондов с различным положением спиновой метки позволило показать, что подвижность жирнокислотных цепей возрастает ближе к концу цепи, т. е. к центру липидного бислоя.

Основной недостаток метода флуоресцентных и спиновых зондов заключается в том, что хотя эти молекулы и невелики, все же, включаясь в липидный бислой, они несколько изменяют его свойства. Этого недостатка практически лишен более дорогой и сложный метод ЯМР.

Метод ЯМР основан на наличии у многих ядер ( $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{33}\text{S}$  и др.) собственного магнитного момента. Наибольшее распространение в настоящее время имеет метод измерения сигналов от ядер водорода (протонов) в органических молекулах. Если бы протон был совершенно изолирован, он давал бы одну узкую линию в спектре ЯМР. Но в органических молекулах протон оказывается в магнитном поле, которое складывается из приложенного к образцу внешнего магнитного поля и из локального магнитного поля, сформированного движением элек-

Рис. 47. Спектры ЯМР водной суспензии липосом из фосфатидилхолина с различным содержанием холестерина [Филипс, 1969].

У спектров указано содержание холестерина в молярных процентах. Цифры у кривых показывают снижение амплитуды максимумов поглощения в процентах к контролю из-за ограничения подвижности соответствующих групп холестерином; 1 000 000  $\Delta\nu/\nu$  — химический сдвиг.



тронов по орбитальным внутри молекулы. Суперпозиция внешнего и внутреннего магнитных полей приводит к тому, что положение линии протона в спектре ЯМР сдвигается на ту или иную величину в зависимости от химического строения той группы, в окружении которой этот протон находится. Величина такого химического сдвига выражается обычно в так называемых миллионных долях  $\sigma = 1\,000\,000 \Delta\nu/\nu$ , где  $\Delta\nu$  — сдвиг частоты по отношению к частоте поглощения  $\nu$  стандартного образца.

На рис. 47 приведен спектр ЯМР суспензии липосом, приготовленных из яичного фосфатидилхолина. Хорошо видны три полосы поглощения, обусловленные протонами  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ -групп холина,  $\text{CH}_2$ -групп жирных кислот и их концевых  $\text{CH}_3$ -групп.

Ценность метода ЯМР при изучении биологических мембран заключается не столько в том, что по спектрам ЯМР можно сказать, сколько тех или иных групп содержит образец (содержание их пропорционально площади соответствующих пиков), сколько в том, что ширина полос позволяет судить о подвижности соответствующих групп в мембранах. Как и в случае спиновых зондов (и по сходной причине), увеличение вязкости микроокружения при-

водит к уширению полос (а следовательно, к уменьшению их амплитуды при сохранении общей площади). Из рис. 47 видно, что в образце, не содержащем холестерина, ширина полос  $(\text{CH}_2)_2$  максимальна;  $\text{CH}_3$  — минимальна, а  $\text{N}(\text{CH}_3)_3$  — имеет промежуточное значение. Это означает, что подвижность жирнокислотных цепей возрастает к середине мембраны, а подвижность полярных групп достаточно велика. На том же рисунке можно видеть (опять-таки по увеличению ширины полос), что холестерин уменьшает подвижность жирнокислотных цепей, в особенности в области  $-\text{CH}_2$ -групп. Это связано с локализацией молекулы холестерина в липидном бислое. Многими методами доказано, что молекула этого стероида расположена между полярной частью фосфолипидов и 8—10 углеродными атомами жирнокислотных цепей (считая от сложноэфирной связи). Таким образом, конечные участки цепей жирных кислот (расположенные в середине бислоя) остаются подвижными в присутствии холестерина в мембране.

#### 5.5. ЛАТЕРАЛЬНАЯ ДИФфуЗИЯ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ В МЕМБРАНАХ. АСИММЕТРИЯ МЕМБРАН

Высокая подвижность липидов в мембранах приводит к хаотическому тепловому перемещению молекул липидов и белков в плоскости мембраны, называемому латеральной диффузией. Этот процесс можно представить себе как скачкообразный последовательный обмен местами молекул фосфолипидов в мембране. Между частотой таких «перескоков»  $\tau^{-1}$  ( $\text{с}^{-1}$ ), площадью  $A$ , занимаемой молекулой фосфолипида на мембране, и средним расстоянием  $\bar{s}$ , которое проходит молекула за время  $t$ , существуют такие соотношения:

$$\tau^{-1} = 2\sqrt{3} D/A; \quad \bar{s}^2 = 4Dt, \quad (5.13)$$

где  $D$  ( $\text{м}^2/\text{с}$ ) — коэффициент латеральной диффузии.

Например, в мембранах саркоплазматического ретикула при  $40^\circ\text{C}$   $D = 12 \cdot 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$ , что соответствует  $\tau^{-1} = 5,9 \cdot 10^7 \text{ с}$  ( $A$  считаем равной  $7 \cdot 10^{-19} \text{ м}^2$ ). Вообще следует отметить, что скорость латеральной диффузии фосфолипидов в плоскости мембраны весьма значительна. Величина  $D$  для липосом из яичного фосфатидилхолина составляет  $6 \cdot 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$ . Это означает (см. уравнение 5.13), что молекула фосфолипида в среднем проходит за секунду

расстояние около 5 мкм, т. е. может пройти из конца в конец такую клетку, как, скажем *E. coli*. Даже гораздо более крупные молекулы — молекулы белков диффундируют на поверхности липидного бислоя достаточно быстро.  $D$  для антигенов на поверхности лимфоцита составляет  $10^{-14} \text{ м}^2/\text{с}$  (т. е.  $s = 0,2 \text{ мкм}/\text{с}$ ). Велики и скорости вращения белков и фосфолипидов в мембранах: поворот молекулы примерно на 1 радиан происходит за время  $\tau_c$ , которое для фосфолипидов равно  $10^{-9} \text{ с}$ , для родопсина в фоторецепторных мембранах —  $10^{-6} \text{ с}$ , для цитохромоксидазы —  $10^{-4} \text{ с}$ . Таким образом, мембрана при физиологических температурах меньше всего напоминает застывшую пленку с неизменной структурой, а скорее похожа на бушующее море, на поверхности которого носятся, вращаются и сталкиваются белковые «суда». Это обеспечивает большую скорость ферментативных и других химических процессов в фосфолипидном слое мембран.

Высокая подвижность веществ в плоскости мембраны сочетается с очень малой скоростью перехода молекул фосфолипидов (и тем более белков) с одной поверхности мембраны на другую. В случае фосфолипидов переход молекулы через поверхность мембраны происходит в среднем лишь один раз за несколько часов. Благодаря этому мембраны асимметричны, т. е. внутренняя и наружная поверхности всех мембран имеют различный липидный и белковый состав. Асимметричная (относительно плоскости мембраны) ориентация транспортных белков приводит к однонаправленному (векторному) переносу веществ через мембраны. С механизмом процессов переноса мы ознакомимся в следующей главе.

#### Глава 6

#### ПАССИВНЫЙ И АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАННЫЕ СТРУКТУРЫ КЛЕТОК

Целый ряд процессов в клетке, например таких, как возбуждение, синтез АТФ, поддержание постоянства ионного состава и содержания воды, связан с переносом веществ через биологические мембраны. Изменение скорости переноса веществ может приводить к нарушению биоэнергетических процессов, водно-солевого обмена, возбудимости и других явлений; коррекция этих изменений ле-

жит в основе действия большого числа лекарственных препаратов.

Различают активный и пассивный перенос (транспорт) нейтральных молекул и ионов через биомембраны. *Активный транспорт* происходит при затрате химической энергии за счет гидролиза АТФ или переноса электрона по дыхательной цепи митохондрий. *Пассивный транспорт* не связан с затратой клеткой химической энергии; он осуществляется в результате диффузии веществ в сторону меньшего электрохимического потенциала (рис. 48). Примером активного транспорта может служить перенос ионов калия и натрия через цитоплазматические мембраны ( $K^+$  — внутрь клетки, а  $Na^+$  — из нее), перенос кальция через мембраны саркоплазматического ретикулума скелетных и сердечной мышц внутрь пузырьков ретикулума, перенос ионов водорода через мембраны митохондрий из матрикса наружу. Все эти процессы происходят за счет энергии гидролиза АТФ и осуществляются особыми ферментами — транспортными АТФ-азами (рис. 49). Наиболее известный пример пассивного транспорта — это движение ионов натрия и калия через цитоплазматическую мембрану нервных волокон при распространении потенциала действия. Впрочем, и в покоящейся клетке существует «утечка» ионов через мембраны, обусловленная их проницаемостью; проницаемость обычно возрастает при патологии.

Большое значение для жизнедеятельности клеток имеет явление *сопряженного транспорта* веществ и ионов, которое заключается в том, что перенос одного вещества (иона) против электрохимического потенциала («в гору») обусловлен одновременным переносом другого иона через мембрану в направлении снижения электрохимического потенциала («под гору»). Схематически это представлено на рис. 50. Работу транспортных АТФ-аз и перенос протонов при работе дыхательной цепи митохондрий часто называют *первичным* активным транспортом, а сопряженный с ним перенос веществ — *вторичным* активным транспортом.

### 6.1. ПАССИВНЫЙ ПЕРЕНОС ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ БИОМЕМБРАНЫ. ДИФфуЗИЯ НЕЗАРЯЖЕННЫХ МОЛЕКУЛ

Различают несколько типов пассивного переноса веществ (включая ионы) через мембраны (см. рис. 48):

А. Простая диффузия.

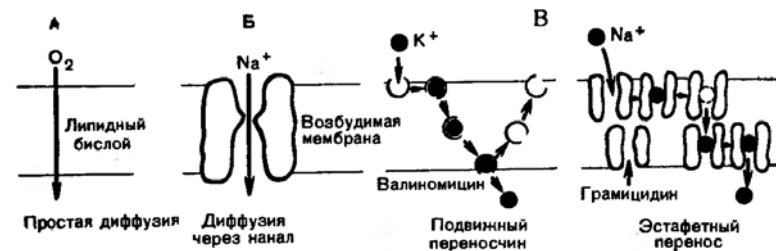


Рис. 48. Пассивный перенос ионов через мембраны.

А — все биологические мембраны; Б — возбудимые цитомембраны нервных и мышечных волокон; В — модельные мембраны в присутствии ионофорных антибиотиков.



Рис. 49. Активный перенос ионов при работе транспортных АТФ-аз.

А — мембраны саркоплазматического ретикулума; Б — цитоплазматические мембраны; В — энергосопрягающие мембраны митохондрий, хлоропластов и бактерий.

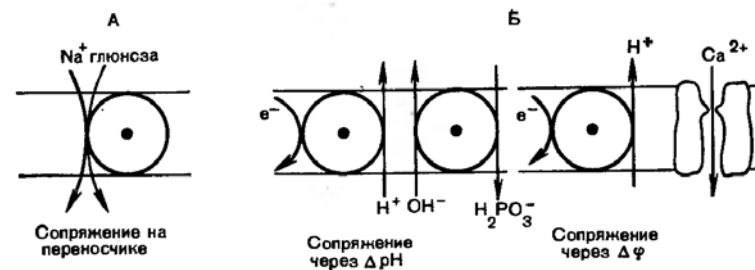


Рис. 50. Сопряженный транспорт ионов и веществ через мембраны.

А — апикальная мембрана клеток эпителия; Б — внутренняя мембрана митохондрий,  $e^-$  — поток электронов по дыхательной цепи.

Б. Перенос через поры (каналы).

В. Транспорт с помощью переносчиков за счет диффузии переносчика вместе с веществом в мембране (подвижный переносчик) или эстафетной передачи вещества от одной молекулы переносчика к другой (молекулы переносчика образуют временную цепочку поперек мембраны).

При всем многообразии механизмов переноса их можно разбить на две основные группы:

1) такие, при которых каждая молекула переносится независимо от других и эффекты концентрационного насыщения отсутствуют (А и Б);

2) такие, в которых перенос осуществляется после связывания транспортируемой молекулы переносчиком; по мере заполнения свободных переносчиков наблюдается эффект концентрационного насыщения скорости переноса (В).

Основное уравнение диффузии веществ через мембрану — это электродиффузионное уравнение Нернста — Планка (1.23). Частный случай этого уравнения относится к диффузии незаряженных молекул через мембрану [см. уравнение (1.15)]. Напомним, что коэффициент проницаемости  $P$  в уравнении (1.15) прямо пропорционален коэффициенту диффузии вещества в мембране  $D$ , коэффициенту распределения вещества в системе мембрана — вода  $K$  и обратно пропорционален толщине мембраны  $l$ .

Для проницаемости вещества через мембраны, например для диффузии кислорода в клетку, важна его диффузия не только через гидрофобный слой липидов и белков, но и через неподвижные слои воды, примыкающие к мембране (примембранные слои). Рассмотрим этот вопрос количественно (рис. 51). Пусть вещество диффундирует в клетку. Вещество, которое переходит из одного перемешивающегося водного раствора («снаружи») с постоянной концентрацией  $c_H$ , в такой же раствор по другую сторону мембраны («внутри») с концентрацией  $c_B$ , должно преодолеть три диффузионных барьера: первый примембранный слой воды, саму мембрану и второй примембранный слой воды. Потоки через эти три слоя по закону Фика равны

$$\Phi_H = P_H (c_H - c_{BH}); \quad \Phi_M = P_M (c_{BH} - c_{BV}); \quad \Phi_B = P_B (c_{BV} - c_B), \quad (6.1)$$

где  $P_H$ ,  $P_M$ ,  $P_B$  — коэффициенты проницаемости соответствующих барьеров;  $c_{BH}$  и  $c_{BV}$  — концентрации вещества в водной фазе на границе с мембраной (рис. 51), которые связаны с концентрациями вещества в мембранной фазе у первой ( $c_{MH}$ ) и второй ( $c_{MB}$ ) поверхностей мембраны соотношением (1.14). Разделив в (6.1) потоки на коэффициенты проницаемости, сложим полученные уравнения:

$$\frac{\Phi_H}{P_H} + \frac{\Phi_M}{P_M} + \frac{\Phi_B}{P_B} = c_H - c_B. \quad (6.2)$$

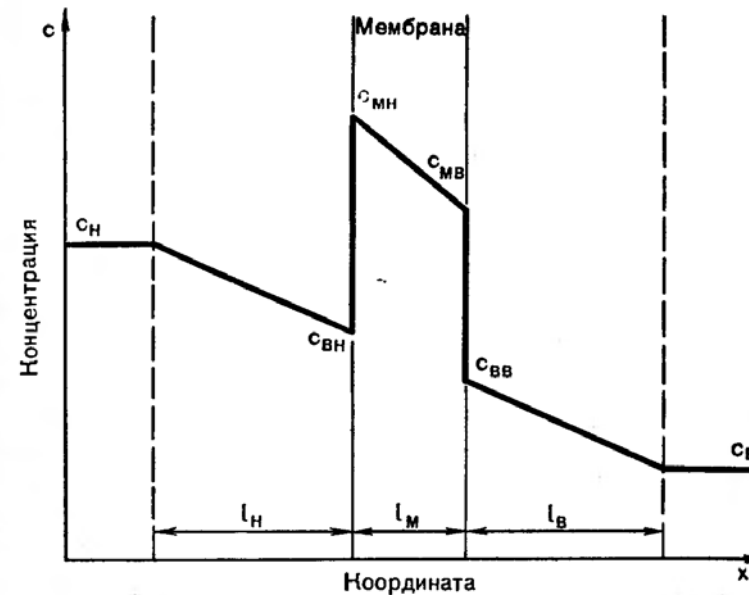


Рис. 51. Перенос вещества через мембрану при наличии неподмешивающихся слоев примембранной воды.

$l_H$ ,  $l_M$ ,  $l_B$  — толщина наружного водного слоя, мембраны и внутреннего водного слоя;  $c$  — концентрация вещества;  $x$  — направление диффузии.

В стационарном состоянии все потоки равны:  $\Phi_H = \Phi_M = \Phi_B = \Phi$ . С другой стороны  $(c_H - c_B) = \Phi/P$ , где  $P$  — коэффициент проницаемости системы в целом. Отсюда

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_H} + \frac{1}{P_M} + \frac{1}{P_B}. \quad (6.3)$$

Таким образом, величина  $1/P$ , обратная коэффициенту проницаемости, весьма напоминает величину электрического сопротивления цепи, состоящей из последовательно соединенных проводников; общее сопротивление равно сумме сопротивлений составляющих элементов. Назовем величину  $1/P$  сопротивлением потоку веществ. Очень важно, что эта величина для примембранных слоев воды пропорциональна толщине этих слоев ( $l_H$  и  $l_B$ ). Действительно, из определения коэффициента проницаемости (уравнение (1.15) следует, что при  $K = 1$  для водных слоев

$$\frac{1}{P_H} + \frac{1}{P_B} = \frac{l_H + l_B}{D_B}, \quad (6.4)$$

где  $D_v$  — коэффициент диффузии вещества в воде. Эти уравнения показывают, как важно для процессов диффузии веществ явление движения протоплазмы в межклеточной жидкости: замедление этого движения эквивалентно росту  $l_n$  или  $l_v$  снижению проницаемости  $P$ . Угнетение процессов жизнедеятельности клеток может, таким образом, тормозить процессы пассивного переноса веществ через мембранные системы за счет снижения перемешивания жидкости в клетке и вне ее.

## 6.2. ЭЛЕКТРОДИФФУЗИЯ ИОНОВ

Чтобы решить дифференциальное уравнение Нернста — Планка (1.23), нужно знать зависимость между  $c$  и  $x$  или  $\psi$  и  $x$  в мембране. Как уже говорилось на с. 112, потенциал внутри мембраны изменяется линейно в зависимости от координаты  $x$ , т. е.  $d\psi/dx$  постоянна, а потому вместо  $d\psi/dx$  в уравнении (1.23) можно написать  $\psi_m/l$ , где  $\psi_m$  — мембранный потенциал, а  $l$  — толщина мембраны. Отсюда

$$\Phi = -RTu \frac{dc}{dx} - zFuc \frac{\psi_m}{l}. \quad (6.5)$$

Выразим  $\psi_m$  через безразмерный потенциал  $\psi$  [см. уравнение (1.8)], а вместо  $RTu$  подставим коэффициент диффузии иона в мембране:

$$D = RTu; \\ \Phi = -D \left( \frac{dc}{dx} - \frac{\psi_c}{l} \right). \quad (6.6)$$

После разделения переменных  $x$  и  $c$  получаем

$$dx = - \frac{dc}{\Phi/D + c\psi/l}. \quad (6.7)$$

Произведем интегрирование в интервале  $x$  от 0 до  $l$  и  $c$  от  $c_{mn}$  до  $c_{mv}$  ( $\Phi$  — постоянная величина):

$$l = - \frac{l}{\psi} \ln \frac{\Phi/D + c_{mv}\psi/l}{\Phi/D + c_{mn}\psi/l}. \quad (6.8)$$

Выразим это уравнение в форме показательной функции:

$$e^{-\psi} = \frac{\Phi/D + c_{mv}\psi/l}{\Phi/D + c_{mn}\psi/l}. \quad (6.9)$$

Отсюда уже легко найти выражение для потока:

$$\Phi = \frac{\psi D}{l} \cdot \frac{c_{mv} - c_{mn} \cdot e^{-\psi}}{e^{-\psi} - 1} \quad (6.10)$$

Целесообразно заменить концентрации вещества в мембране (у ее границ с водной фазой)  $c_{mn}$  и  $c_{mv}$  на концентрации в водной среде по обе стороны мембраны  $c_m$  и  $c_v$ , пользуясь величиной коэффициента распределения  $K$  (см. уравнение 1.14). Наконец, можно заменить величину  $DK/l$  коэффициентом проницаемости мембраны для иона  $P$ . Получим окончательное выражение для потока ионов через мембрану

$$\Phi = P\psi \frac{c_v - c_m e^{-\psi}}{e^{-\psi} - 1}. \quad (6.11)$$

Это уравнение устанавливает количественную связь между разностью концентраций иона ( $c_v - c_m$ ), мембранным потенциалом ( $\psi_m$  или  $\psi$ ), проницаемостью мембраны для этого иона ( $P$ ) и потоком ( $\Phi$ ). В данном случае мы для простоты пренебрегаем влиянием примембранных слоев жидкости. Это можно сделать потому, что из-за низкой растворимости неорганических ионов в мембране [ $K \ll 1$ , см. уравнение (1.14)] величина  $P_m$  в уравнении (6.3) значительно меньше величины  $P_n$  и  $P_v$ , а потому суммарное сопротивление мембраны и водных слоев потоку ионов ( $1/P$ ) близко сопротивлению самой мембраны ( $1/P_m$ ).

## 6.3. ПАССИВНЫЙ ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ ПОРЫ

Механизм обычной электродиффузии в живой клетке обеспечивает проницаемость мембран для кислорода и углекислого газа, а также для чуждых клетке веществ, в частности ядов и лекарств. Этот процесс происходит слишком медленно и плохо контролируется, поэтому клетка не могла его использовать с целью переноса питательных веществ или необходимых для жизнедеятельности ионов. Для этой цели в ходе эволюции выработались специальные (белковые в своей основе) поры (каналы) и переносчики.

В простейшем случае перенос вещества через поры в довольно широких пределах не зависит от концентрации переносимого вещества и описывается обычным электродиффузионным уравнением. Эффективный коэффициент



проницаемости  $P$  в этом случае зависит от числа каналов  $n$  на единицу площади мембраны, радиуса канала  $r$  и коэффициента диффузии вещества в воде:

$$P = \pi r^2 n D / l, \quad (6.12)$$

где  $l$  — длина канала, равная, очевидно, толщине мембраны. Если канал содержит заряженные группы, концентрация ионов внутри канала уменьшится или увеличится в соответствии со средней величиной потенциала  $\phi$  в канале (см. уравнение 5.5). Это приводит к изменению проницаемости. Вместе с тем ионы, находящиеся в канале, могут сами влиять на потенциал  $\phi$ ; кроме того, если канал узок, они могут мешать друг другу двигаться.

#### 6.4. ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ПРОНИЦАЕМОСТЬ БИОМЕМБРАН

Одна из особенностей проницаемости биологических мембран — это избирательность, т. е. значительная разница в коэффициентах проницаемости для разных молекул и ионов. Эта избирательность связана в случае простой диффузии с коэффициентом распределения  $K$ , а в случае облегченной диффузии — с избирательностью каналов и переносчиков.

В случае диффузии иона через канал скорость процесса, как следует из уравнения Теорелла, пропорциональна концентрации иона в канале ( $c$ ). Если принять равными градиенты электрохимического потенциала  $dp/dx$  для двух ионов и пренебречь различиями их подвижности в водной фазе канала  $u$ , то отношение потоков двух ионов, скажем,  $K^+$  и  $Na^+$ , будет зависеть только от отношения их концентраций в канале. В свою очередь это различие концентраций может быть связано с несколькими причинами. Например, канал может оказаться слишком узким для того, чтобы туда вообще мог проникнуть один из ионов. С другой стороны, если канал слишком широк, то уменьшается прочность связи иона с каналом, а следовательно, концентрация данных ионов в канале. Согласно гипотезе Муллинза, лучше всего проходят через поры те ионы, радиус которых (в окружении одного слоя молекул воды) близок к радиусу пор. В случае натриевого канала в возбудимой мембране перенос ионов происходит через «горловину» поры, в которой находится группа —  $COO^-$  (см. рис. 61). Чем выше сродство иона к этой группе, тем выше будет его поток через канал и мембрану в целом (гипотеза Хил-

ле). В самом деле, если константы сродства канала к двум ионам равны  $K_{c1}$  и  $K_{c2}$ , то из предыдущего ясно, что

$$\frac{P_1}{P_2} = \frac{\Phi_1}{\Phi_2} = \frac{c_{1к}}{c_{2к}} = \frac{K_{c1}}{K_{c2}} \cdot \frac{c_1}{c_2}, \quad (6.13)$$

где  $c_1(c_2)$  и  $c_{1к}(c_{2к})$  — концентрация ионов в водной среде и в канале соответственно.

Повышение концентрации молекул и ионов в мембране лежит также и в основе действия переносчиков. Наиболее подробно это явление изучено для случая переноса ионов так называемыми ионофорными антибиотиками: валиномицином, энниатинами и др. Синтез и изучение механизма действия целого ряда подобных антибиотиков был осуществлен Ю. А. Овчинниковым, В. Т. Ивановым и сотрудниками. Установлено, что валиномицин резко повышает проницаемость мембран для  $K^+$  благодаря специфике своей структуры. Шесть карбонильных групп  $\text{>C=O}$  этого макроцикла формируют полость (сферу), в которую точно и прочно вписывается ион калия.

Как уже говорилось на с. 72, связывание иона с 6 группами характеризуется константой связывания  $K^b$ , т. е. много раз большей, чем при связывании с одной такой группой. Ион  $Na^+$  слишком велик для отверстия в молекуле валиномицина, а например,  $Cs^+$  маловат. Избирательность валиномицина в качестве переносчика поэтому чрезвычайно велика: например,  $P_{K^+}/P_{Na^+} = 10^4$ . Таким образом, структурное соответствие лежит в основе избирательности переноса ионов как через каналы, так и через посредство переносчиков в биологических мембранах.

#### 6.5. МЕХАНИЗМ АКТИВНОГО ПЕРЕНОСА ИОНОВ

Известны четыре основные системы активного транспорта ионов в животной клетке, три из которых обеспечивают перенос ионов  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  и  $H^+$  через биологические мембраны за счет энергии гидролиза АТФ специальными ферментами-переносчиками, которые называются транспортными АТФ-азами (см. рис. 49). Четвертый механизм — перенос протонов при работе дыхательной цепи митохондрий пока изучен недостаточно. Наиболее сложно из транспортных АТФ-аз устроена  $H^+$ -АТФ-аза, состоящая из нескольких субъединиц, а самая простая —  $Ca^{2+}$ -АТФ-аза,

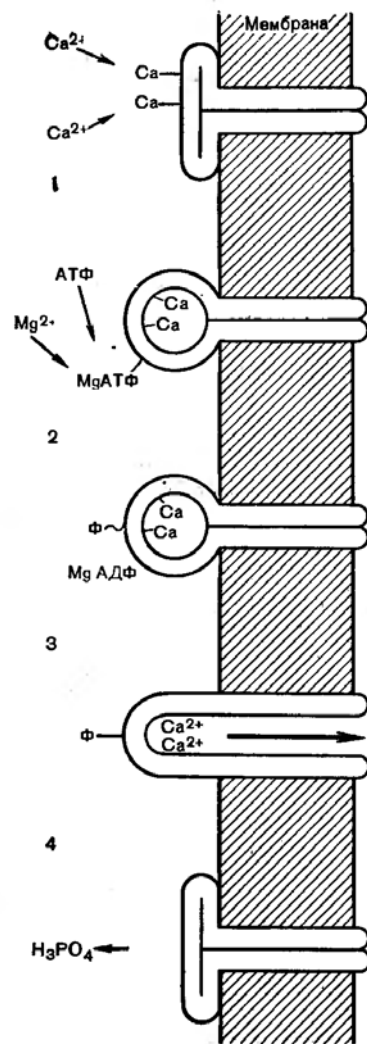


Рис. 52. Основные этапы сопряженного с гидролизом АТФ, переноса ионов  $\text{Ca}^{2+}$  через мембрану. Видны изменения конформации фермента, обеспечивающие активный транспорт ионов. Объяснения — в тексте (по В. Б. Ритову и Ю. А. Владимирову).

состоящая из одной полипептидной цепи с молекулярной массой около 100 000. Рассмотрим механизм переноса ионов кальция этой АТФ-азой.

Работа АТФ-азы изучается обычно на изолированных мембранных системах, в случае  $\text{Ca}^{2+}$  — АТФ-азы — на пузырьках саркоплазматического ретикулума, которые выделяют из гомогенатов мышечной ткани. В отдельных случаях работу фермента изучают и на реконструированной системе: очищенной  $\text{Ca}^{2+}$  — АТФ-азе, встроенной в фосфолипидные везикулы (липосомы).

Схематически основные этапы работы  $\text{Ca}^{2+}$  — АТФ-азы изображены на рис. 52.

*Первый этап работы  $\text{Ca}^{2+}$  — АТФ-азы* — связывание субстратов:  $\text{Ca}^{2+}$  и АТФ в комплексе с  $\text{Mg}^{2+}$  ( $\text{Mg-ATP}$ ). Эти два лиганда присоединяются к разным центрам на

поверхности молекулы фермента, обращенной наружу пузырька саркоплазматического ретикулума. Высокая константа связывания  $\text{Ca}^{2+}$  (порядка  $10^7$  л/моль) свидетельствует о том, что при связывании этого иона высвобождается большое количество энергии. По уравнению (1.6) находим, что при связывании ионов кальция при  $37^\circ\text{C}$  высвобождается 37,4 кДж на 1 моль.

*Второй этап работы фермента* — гидролиз АТФ. При этом происходит образование фермент-фосфатного комплекса ( $\text{E} \sim \text{P}$ ). Его образование можно обнаружить по включению в белок радиоактивного изотопа  $\text{P}^{32}$  из АТФ, меченной по фосфату. Константа связывания образовавшегося АДФ с ферментом в  $\text{E} \sim \text{P}$  составляет примерно  $5 \cdot 10^6$  л/моль и практически совпадает с константой связывания АТФ. Иначе говоря, больших затрат или выигрыша в энергии при переходе фермент-субстратного комплекса  $\text{E} - \text{ATP}$  в  $\text{E} - \text{ADP}$  не происходит. На что же потрачена свободная энергия гидролиза АТФ (около 40 кДж/моль)? Очевидно, на синтез энзимфосфата ( $\text{E} \sim \text{P}$ ).

*Третий этап работы фермента* — переход центра связывания  $\text{Ca}^{2+}$  на другую сторону мембраны (транслокация). Очевидно, это должно сопровождаться изменением пространственной структуры ион-транспортного комплекса. Действительно, рядом методов, в частности путем измерения ЭПР-сигнала спиновой метки, присоединенной к  $\text{Ca}^{2+}$  — АТФ-азе, было показано изменение конформации белка в ходе работы  $\text{Ca}^{2+}$  — АТФ-азы. Это проявляется в том, что на определенных стадиях работы фермента происходит изменение подвижности спиновой метки.

Сам по себе процесс транслокации еще недостаточен для активного транспорта ионов. Нужна энергия, чтобы прочно связанные ионы оторвались от центров связывания. Эта энергия в конечном счете обусловлена гидролизом АТФ. Но на этапе 2, где этот гидролиз происходит, образуется  $\text{E} \sim \text{P}$ -комплекс с макроэргической фосфатной связью. Высвобождение энергии происходит на *третьем* этапе работы  $\text{Ca}^{2+}$  — АТФ-азы в результате изменения характера связи фосфатной группы с ферментом: связь становится обычной, при ее гидролизе энергии выделяется немного. Энергия, ранее сосредоточенная в макроэргической фосфатной связи, расходуется на изменение константы связывания ионов кальция с ферментом. Константа связывания становится равной примерно  $10^8$  л/моль. С энергетической точки зрения это означает изменение энергии связывания:  $\Delta G$  при связывании  $\text{Ca}^{2+}$  внутри везикул равна всего лишь 17,8 кДж/моль ( $\Delta G = 5,9 \lg K_c$ , кДж/моль). Перенос  $\text{Ca}^{2+}$  с одной стороны мембраны на другую сопровождается, таким образом, затратой энергии, которая может составлять  $37,4 - 17,8 = 19,6$  кДж/моль. Ясно, что энергии гидролиза АТФ (около 40 кДж/моль) хватает на перенос двух ионов кальция. Действительно,

изучение стехиометрического отношения числа перенесенных через мембрану молей  $\text{Ca}^{2+}$  к числу молей гидролизованного АТФ показало, что оно равно 2.

Перенос  $\text{Ca}^{2+}$  из области меньшей ( $1 \div 4 \cdot 10^{-7}$  моль/л) в область больших концентраций ( $1 \div 10 \cdot 10^{-3}$  моль/л) — это и есть та работа, которую совершает  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортная АТФ-аза в мышечных клетках.

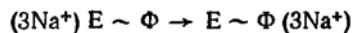
Для повторения цикла требуется возвращение кальцийсвязывающих центров изнутри наружу, т. е. еще одно конформационное изменение в молекуле фермента, которое следует за гидролизом энзим-фосфатного комплекса (этап 4)

Несмотря на значительные различия в структуре  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы и  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФ-азы, разную локализацию в клетке и различную биологическую роль, молекулярный механизм работы этих двух «насосов» во многом близок. Основные этапы работы  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФ-азы таковы:

1. Присоединение трех ионов  $\text{Na}^+$  и фосфорилирование фермента внутри клетки:



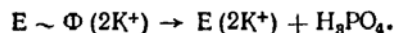
2. Перенос центров связывания  $\text{Na}^+$  наружу (транслокация 1):



3. Отсоединение ионов натрия и замена этих ионов двумя ионами  $\text{K}^+$ , находящимися во внешней среде:



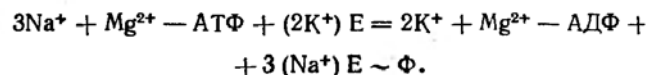
4. Отщепление остатка фосфорной кислоты:



5. Перенос центров связывания вместе с ионами  $\text{K}^+$  внутрь клетки (транслокация 2):



6. Отщепление  $2\text{K}^+$ , присоединение  $3\text{Na}^+$  и фосфорилирование фермента:



Перенос  $2\text{K}^+$  внутрь клеток и выброс  $3\text{Na}^+$  наружу приводит в итоге к переносу одного положительного заряда из цитоплазмы в окружающую среду, а это способствует появлению мембранного потенциала (со знаком

«минус» внутри клетки). Таким образом,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насос является *электрогенным*. Величина работы, которую необходимо совершить для переноса ионов при функционировании этого фермента, зависит как от мембранного потенциала, так и от градиентов концентрации  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$  на мембране, а именно на каждый моль

$$\Delta G = 2RT \ln \frac{[\text{K}^+]_2}{[\text{K}^+]_1} + 3RT \ln \frac{[\text{Na}^+]_1}{[\text{Na}^+]_2} + zF\varphi_m, \quad (6.14)$$

где  $z$  равен 1, так как в цикле работы  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФ-азы переносится один положительный заряд в область более высокого потенциала [см. уравнение (1.5)];  $[\text{K}^+]_1$ ,  $[\text{Na}^+]_1$  и  $[\text{K}^+]_2$ ,  $[\text{Na}^+]_2$  — концентрации ионов во внешней среде и клетке.

В нервном волокне кальмара *Loligo forbesi*  $\varphi_m = -60$  мВ и  $[\text{K}^+]_2 = 0,340$  моль/л;  $[\text{K}^+]_1 = 0,104$  моль/л;  $[\text{Na}^+]_2 = 0,049$  моль/л;  $[\text{Na}^+]_1 = 0,463$  моль/л. Подставив эти величины в уравнение (6.14), получаем  $\Delta G = 18,0 + 17,4 + 5,8 = 41,2$  кДж/моль. Примерно такую же работу совершает в каждом цикле  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФ-аза в сарколемме (цитомембране) мышечных клеток и в эритроцитах. Мы видим, что как и в случае  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы, на активный транспорт тратится практически вся энергия гидролиза АТФ (31–36 кДж/моль в стандартных условиях и до 45 кДж/моль при реальных внутриклеточных концентрациях АТФ, АДФ и ортофосфата).

## 6.6. КИНЕТИКА АКТИВНОГО ТРАНСПОРТА

Зависимость потока  $\Phi$  ионов через мембрану в отсутствие влияния мембранного потенциала от концентрации, транспортной АТФ-азы и концентрации ионов по сторонам мембраны  $[\text{S}]_1$  и  $[\text{S}]_2$  описывается уравнением

$$\Phi = \Phi_m \left( \frac{[\text{S}]_1}{K_1 + [\text{S}]_1} - \frac{[\text{S}]_2}{K_2 + [\text{S}]_2} \right), \quad \text{где } \Phi_m = \frac{c_0 P}{2}. \quad (6.15)$$

$c_0$  — концентрация фермента-переносчика в мембране;  $P$  — коэффициент проницаемости мембраны для иона в комплексе с ферментом;  $K_1$  и  $K_2$  — константы диссоциации комплекса иона с активным центром фермента — переносчика на двух сторонах мембраны.

Вывод этого уравнения будет рассмотрен в главе 7.

По мере работы транспортных АТФ-аз концентрация ионов  $[\text{S}]_1$ , выкачиваемых помпой ( $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Na}^+$  в цитоплазме

ме,  $K^+$  во внеклеточной среде), снижается, а концентрация ионов  $[S]_2$ , накачиваемых АТФ-азами ( $Ca^{2+}$  в пузырьках саркоплазматического ретикулума,  $K^+$  в цитоплазме и  $Na^+$  в окружающей среде), возрастает. Поток ионов в уравнении (6.15) при этом уменьшается и становится равным нулю в состоянии равновесия. При  $\Phi = 0$

$$\frac{[S]_1}{[S]_2} = \frac{K_1}{K_2}. \quad (6.16)$$

Таким образом, предел градиента концентраций ионов, который может создать данная помпа, определяется отношением констант диссоциаций комплексов этих ионов с переносчиком по две стороны мембраны. «Качать» помпа будет в ту сторону, где константа диссоциации комплекса выше, т. е. ниже константа связывания.

Важный фактором, влияющим на скорость работы АТФ-аз, может быть электрический потенциал на мембране, если помпа электрогенна. Как и в случае пассивного транспорта [см. уравнение (6.11)], перенос положительного заряда замедлен при положительном потенциале по другую сторону мембраны и ускорен при отрицательном значении потенциала. Вопрос в том, происходит ли перенос заряда при работе ионных насосов. Данные, полученные на природных мембранах или реконструированных везикулах, состоящих из синтетических фосфолипидов и очищенных АТФ-аз, показали, что все три помпы:  $Ca^{2+}$ -АТФ-аза,  $Na^+ - K^+$ -АТФ-аза и  $H^+$ -АТФ-аза переносят ионы вместе с зарядом (а не в обмен на другой ион, т. е. без суммарного переноса заряда).

Появление создаваемого помпой электрического потенциала может снизить скорость работы  $Na^+ - K^+$ -АТФ-азы в клетке и  $H^+$ -АТФ-азы в митохондриях, так как цитомембрана и внутренняя мембрана митохондрий плохо проницаемы для ионов и могут удерживать мембранный потенциал. В противоположность этому, мембрана саркоплазматического ретикулума характеризуется высокой проницаемостью для других ионов, кроме кальция. Потенциал, создаваемый при работе  $Ca^{2+}$ -АТФ-азы, мембрана не удерживает из-за утечки других ионов через мембрану. Поэтому работа  $Ca^{2+}$ -АТФ-азы не связана с мембранным потенциалом.

Если помпа работает в оптимальных условиях, т. е. не испытывает недостатка ни в АТФ, ни в ионах, то единственным ограничением ее работы оказывается ее собст-

венная производительность. В этом случае в уравнении (6.15)  $\Phi = \Phi_m$ . Максимальная скорость процесса, как видно из уравнения (6.15), прямо пропорциональна (1) концентрации переносчика в мембране  $c_0$ , т. е. количеству транспортной АТФ-азы, и (2) коэффициенту проницаемости мембраны для иона в комплексе с ферментом-переносчиком  $P$ . Применительно к транспортным АТФ-азам перенос иона связан с изменением конформации фермента, в результате которого ион, находившийся в равновесии с водной фазой на одной стороне мембраны, переходит в состояние равновесия с водной фазой на другой стороне. Это движение фермента (или его участков) зависит от подвижности молекул фосфолипидов в бислое. Поэтому активность транспортных АТФ-аз, как и других встроенных в мембрану ферментов, четко коррелирует с изменениями подвижности липидов в мембране.

Экспериментатор может изменять подвижность фосфолипидных молекул в мембране, меняя температуру среды. В организме тепловых изменений подвижности липидов в мембранах регулируется путем изменения их липидного состава, например, путем изменения соотношения ненасыщенных жирнокислотных остатков к насыщенным и изменения концентрации холестерина в цитоплазматических мембранах. При патологии могут происходить неблагоприятные изменения подвижности липидов в мембранах и, как следствие этого — нежелательное изменение активности мембранных ферментов. Одна из гипотез развития атеросклероза заключается в том, что увеличение вязкости мембран клеток стенок кровеносных сосудов при избытке холестерина или перекисном окислении липидов приводит к снижению активности мембранных рецепторов и транспортных АТФ-аз, нарушению баланса ионов (в частности, росту концентрации  $Ca^{2+}$  в клетках) и активации деления клеток в стенках сосудов, которая приводит к появлению и росту атеросклеротических бляшек.

## 6.7. СОПРЯЖЕННЫЙ ТРАНСПОРТ ИОНОВ

На рис. 50 схематически изображено несколько видов сопряженного транспорта.

*Сопряжение транспорта ионов через мембранный потенциал.* При работе дыхательной цепи митохондрий происходит выброс протона из матрикса в окружающую среду (см. раздел 1), сопровождающийся появлением на мембране

перепада электрохимического потенциала протона  $\Delta\mu_{H^+} = RT\Delta\ln[H^+] + zF\varphi_m$ . Такие «энергизованные» митохондрии обладают способностью накапливать ионы  $Ca^{2+}$  и ортсфосфата, что связано с наличием электрического потенциала ( $\varphi_m$ ) и градиента рН ( $\Delta pH = -\Delta\lg[H^+]$ ) на мембране, а также с тем, что мембраны митохондрий проницаемы для  $Ca^{2+}$  и  $H_2PO_4^-$ . Ионы кальция идут при этом внутрь митохондрий под влиянием градиента электрического потенциала (внутри энергизованных митохондрий знак потенциала «минус»). Получается, что процесс переноса кальция сопряжен с активным транспортом протонов через мембранный потенциал. Повреждение митохондриальных мембран приводит к снижению потенциала на мембране, прекращению аккумуляции ионов кальция митохондриями и даже к выходу этих ионов из матрикса в протоплазму.

*Сопряжение через  $\Delta pH$*  имеет место при транспорте фосфата внутрь энергизованных митохондрий. Белковый переносчик фосфата на внутренней мембране митохондрий осуществляет процесс обмена  $H_2PO_4^- \rightleftharpoons OH^-$ , так что в целом перенос фосфата не сопровождается переносом заряда и с точки зрения стехиометрии эквивалентен диффузии через мембрану недиссоциированной  $H_2PO_4^-$ . Направление диффузии  $H_2PO_4^-$  определяется градиентом концентрации водородных ионов, так как фосфорная кислота диссоциирует при нейтральных рН и ее перенос через мембрану означает перенос протонов. Процесс этот происходит из области большей в область меньшей концентрации  $H^+$ . Получается, таким образом, что в конечном счете причина транспорта фосфата внутрь митохондрий — это движение протонов наружу при энергизации митохондрий. При этом сопряжение транспорта фосфата и протонов опосредовано появлением градиента рН на мембране.

Примеры транспорта веществ, сопряженного на переносчике, рассмотрены в разделе 7.3.

## Глава 7

### ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ ЭПИТЕЛИИ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ

Характерная особенность транспорта веществ в эпителии ряда органов (кишечник, почки, легкие) заключается в том, что этот транспорт осуществляется через слой клеток

(монослой в кишечнике и нефронах), а не через единичную клеточную мембрану. Такой транспорт называют *трансцеллюлярным*, или *транsepителиальным*.

Эпителиоциты кишечника и канальцев нефронов — асимметричные клетки: апикальная и базальная мембраны отличаются друг от друга по проницаемости, величине мембранной разности потенциалов и выполняют неодинаковые транспортные функции (см. рис. 55).

#### 7.1. РОЛЬ ПЕРЕНОСЧИКОВ В ТРАНСПОРТЕ САХАРОВ И АМИНОКИСЛОТ В КИШЕЧНИКЕ

Перенос (всасывание) сахаров и аминокислот из просвета тонкой кишки в ее серозную часть не является простой диффузией по закону Фика (см. главу 6). Об этом говорят многие особенности этого процесса, а именно:

1. *Стереоспецифичность*: стереоизомеры сахаров и аминокислот транспортируются с различной скоростью, хотя коэффициенты их диффузии и распределения близки [см. уравнение (1.15)]. L — аминокислоты переносятся быстрее, чем D-формы, а L-сахара — медленнее D-сахаров.

2. *Специфическое ингибирование* переноса: например, флоридзин, введенный в просвет кишечника, специфически подавляет транспорт сахаров, не затрагивая переноса аминокислот.

3. *Взаимное конкурентное ингибирование*: вещества из одного класса, например сахара, тормозят транспорт друг друга.

4. *Эффект противотока*. Если, например, ввести в просвет кишки D ксилозу и дождаться, чтобы концентрации сахара в просвете и в цитоплазме эпителиоцитов выравнялись, а затем в просвет ввести D глюкозу, наблюдается выход ксилозы из цитоплазмы в просвет против градиента концентрации.

5. *Эффект насыщения*: при большой концентрации скорость переноса веществ через стенку кишечника не возрастает при дальнейшем росте концентрации.

Все эти факты объясняются тем, что транспорт веществ происходит в комплексе с переносчиком, концентрация которого в апикальных мембранах эпителиоцитов ограничена. Описанный выше эффект противотока наблюдается в связи с тем, что при переносе глюкозы (по концентрационному градиенту) в клетку концентрация переносчика

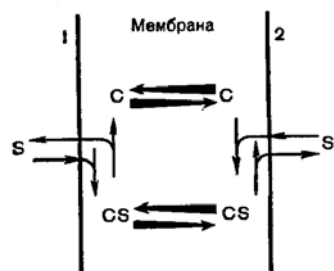


Рис. 53. Схема транспорта веществ через мембрану в комплексе с переносчиком.

1, 2 — наружная и цитоплазматическая поверхности мембраны (соответственно). Жирные стрелки показывают диффузию комплекса или переносчика в мембране.

в мембране со стороны цитоплазмы возрастает и освободившиеся от глюкозы молекулы переносчика транспортируют ксилозу в просвет кишечника.

## 7.2. КИНЕТИКА ПЕРЕНОСА ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ ПЕРЕНОСЧИКА ЧЕРЕЗ АПИКАЛЬНУЮ МЕМБРАНУ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ КИШЕЧНИКА

Перенос вещества (S) с помощью переносчика (C) через любую мембрану упрощенно можно представить себе в виде двух процессов: диффузии в мембране комплекса (CS) в одном направлении и диффузии свободного переносчика в обратном направлении (рис. 53). Главным барьером для транспортируемого вещества служит сама мембрана. Поэтому можно принять, что у обеих поверхностей мембраны быстро устанавливается равновесие вещества и свободного переносчика с комплексом и, следовательно,

$$[S]_1 [C]_1 = K_1 [CS]_1; [S]_2 [C]_2 = K_2 [CS]_2, \quad (7.1)$$

где  $K_1$  и  $K_2$  — константы диссоциации комплекса; индексы 1, 2 обозначают разные стороны мембраны (см. рис. 53).

При пассивном переносе вещества  $K_1 = K_2$ , так как энергия образования и распада комплекса одинакова у обеих поверхностей мембраны [ср. уравнение (1.6)]. В случае активного транспорта  $K_1 \neq K_2$  (см. гл. 6). Если обозначить через  $c_0$  общую концентрацию переносчика в мембране во всех его формах, то

$$[C]_1 + [CS]_1 + [C]_2 + [CS]_2 = c_0. \quad (7.2)$$

Поскольку скорость всего процесса переноса определяется скоростью диффузии комплекса через мембрану,

для плотности суммарного потока ( $\Phi$ ) вещества имеем выражение

$$\Phi = P ([CS]_1 - [CS]_2), \quad (7.3)$$

где  $P = D/l$  — коэффициент проницаемости мембраны для комплекса;  $D$  — коэффициент диффузии комплекса в мембране;  $l$  — толщина мембраны.

Будем рассматривать стационарное состояние, когда поток комплекса в одном направлении равен потоку свободного переносчика в другом:

$$\Phi = P_c ([C]_2 - [C]_1), \quad (7.4)$$

где  $P_c = D_c/l$  — коэффициент проницаемости мембраны для свободного переносчика;  $D_c$  — коэффициент диффузии переносчика.

Размер молекул переносчика, имеющего белковую природу, гораздо больше размера молекул транспортируемого вещества. Поэтому можно постулировать, что коэффициенты диффузии переносчика и комплекса в мембране равны друг другу, а значит  $P = P_c$ . Тогда из (7.2)—(7.4) следует

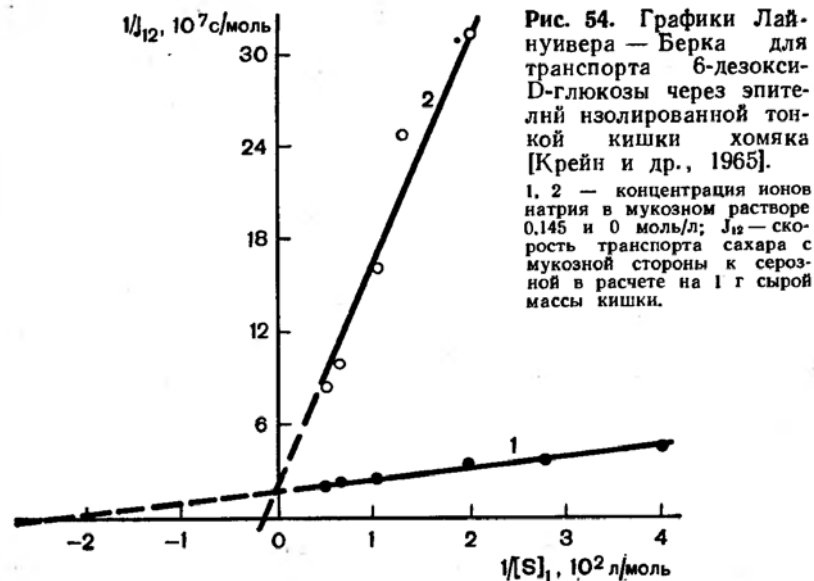
$$[C]_1 + [CS]_1 = [C]_2 + [CS]_2 = c_0/2. \quad (7.5)$$

Заменив в уравнениях (7.1) величины  $[C]_1$  и  $[C]_2$  на их выражения через  $c_0$  [уравнение (7.2)], найдя затем выражения для  $[CS]_1$  и  $[CS]_2$  и подставив их [с учетом соотношения (7.5)] в уравнение (7.3), получим окончательно

$$\Phi = \Phi_m \frac{[S]_1}{K_1 + [S]_1} - \Phi_m \frac{[S]_2}{K_2 + [S]_2} \equiv \Phi_{12} - \Phi_{21}. \quad (7.6)$$

При  $[S]_2 = 0$  наблюдается однонаправленный (частный) поток вещества слева направо (см. рис. 53); при этом  $\Phi = \Phi_{12}$ . Если  $[S]_1 = 0$ , получаем частный поток справа налево;  $\Phi = -\Phi_{21}$ . Таким образом, общий поток  $\Phi$  равен разности частных (однонаправленных) потоков. Максимальная величина ( $\Phi_m$ ) каждого из частных потоков равна  $Pc_0/2$  и достигается при высокой концентрации транспортируемого вещества:  $\Phi_{12} = \Phi_m$ , когда  $[S]_1 \gg K_1$ , и  $\Phi_{21} = \Phi_m$ , если  $[S]_2 \gg K_2$ . При этом условии весь переносчик на данной стороне мембраны оказывается в форме комплекса с транспортируемым веществом.

Чтобы измерить однонаправленный поток, нужно ввести транспортируемое вещество с одной стороны мембраны и измерить начальный поток, пока концентрация вещества



другой стороны близка к нулю. Частный поток можно определить и другим способом: добавить с одной стороны мембраны транспортируемое вещество с радиоактивной меткой и регистрировать ее появление по другую сторону. В этом случае неважно даже, куда направлен суммарный поток и существует ли он вообще; изотоп переносится односторонне, так как его концентрация по другую сторону мембраны равна нулю.

Выражения для односторонних потоков и по форме и по сути аналогичны уравнению Михаэлиса — Ментен для скорости ферментативной реакции: если скорость последней зависит от связывания субстрата с ферментом, то скорость переноса вещества — от связывания его с белком-переносчиком.

Чтобы определить параметры  $K_1$  и  $\Phi_m$ , обычно измеряют скорость транспорта  $J_{12}$  (произведение  $\Phi_{12}$  и площади поверхности мембраны) при разных  $[S]_1$  и откладывают на графике  $1/J_{12}$  как функцию  $1/[S]_1$ . Получается прямая (график Лайнуивера — Берка), уравнение которой легко получить из (7.6):

$$\frac{1}{J_{12}} = \frac{1}{J_m} + \frac{K_1}{J_m} \cdot \frac{1}{[S]_1} \quad (7.7)$$

где  $J_m$  — максимальная скорость транспорта, равная произведению  $\Phi_m$  и площади поверхности мембраны. В частности, было показано, что транспорт сахаров (рис. 54) и аминокислот в тонкой кишке подчиняется уравнению (7.7). Это говорит о том, что транспорт действительно происходит с участием переносчиков. Если теперь экспериментальную прямую экстраполировать до пересечения с осями координат, то отрезки, отсекаемые на осях абсцисс и ординат, будут равны по абсолютной величине соответственно  $1/K_1$  и  $1/J_m$ .

На анализе величин  $K_1$  и  $J_m$  базируется кинетическое изучение механизма транспорта веществ в комплексе с переносчиком. При тех или иных воздействиях  $K_1$  и  $J_m$  могут меняться одновременно или порознь. Если наблюдается увеличение  $K_1$  (см. рис. 54), это свидетельствует о том, что произошло конкурентное ингибирование транспорта, т. е. ослабление способности переносчика связывать транспортируемое соединение. Уменьшение же  $J_m$  может быть результатом снижения площади поверхности мембраны, концентрации переносчика или скорости диффузии комплекса через мембрану [см. уравнение (7.6) и (7.7)]. При сопоставлении величин  $K_1$  и  $J_m$  для транспорта D- и L-аминокислот в тонкой кишке установлено, что  $J_m$  для обоих стереоизомеров мало отличаются.  $K_1$  для L-аминокислот оказалась в 10—100 раз меньше, чем для D-форм. Это означает, что L-аминокислоты гораздо сильнее связываются молекулами переносчика и потому быстрее транспортируются.

### 7.3. СОПРЯЖЕНИЕ ТРАНСПОРТА САХАРОВ И АМИНОКИСЛОТ С ТРАНСПОРТОМ ИОНОВ НАТРИЯ

Перенос сахаров и аминокислот в тонком кишечнике сопряжен с транспортом  $\text{Na}^+$ , и это сопряжение осуществляется непосредственно на переносчике (рис. 55). В пользу этого говорят два факта. С одной стороны, такой перенос происходит с значительной скоростью лишь в присутствии ионов натрия. При этом транспорт сахаров и аминокислот из просвета кишки может осуществляться даже против их концентрационного градиента при наличии достаточного градиента электрохимического потенциала ионов натрия. При изучении кинетики переноса сахаров и аминокислот выяснилось, что обычно ионы натрия уменьшают  $K_1$ , как это показано на рис. 54 для 6-дезоксид-D-

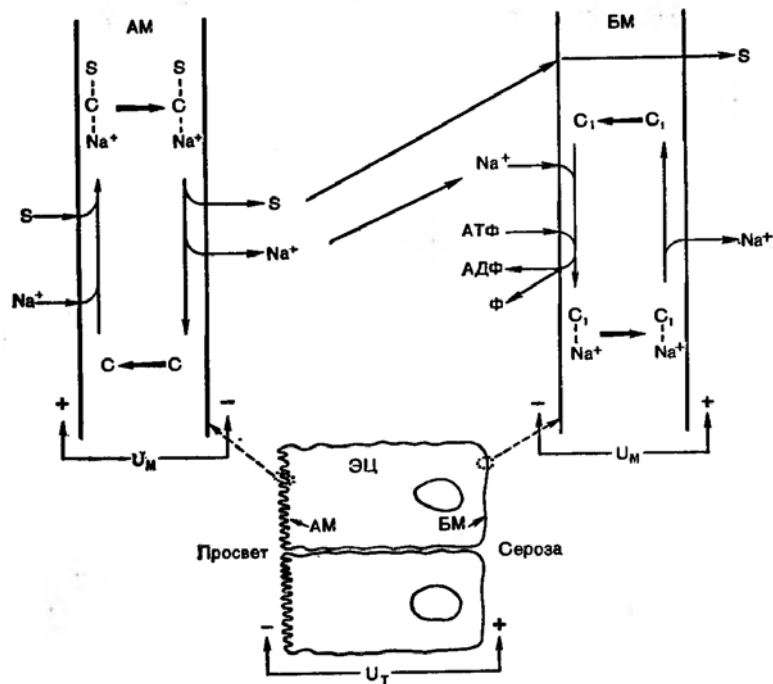


Рис. 55. Схема молекулярного механизма сопряжения транспорта сахаров и аминокислот с транспортом ионов натрия в эпителии тонкой кишки.

ЭЦ, АМ, БМ — эпителиоцит, его апикальная и базальная мембраны; S—C—Na<sup>+</sup> — тройной комплекс; C<sub>1</sub> — переносчик Na<sup>+</sup> через базальную мембрану; U<sub>м</sub>, U<sub>т</sub> — трансмембранная и трансэпителиальная разность потенциалов (соответственно).

глюкозы. В случае транспорта D-глюкозы в кишечнике хомяка введение NaCl в просвет тонкой кишки вызывало снижение  $K_1$  с 0,5 моль/л (в отсутствие Na<sup>+</sup>) до 0,003 моль/л (при [Na<sup>+</sup>] = 0,145 моль/л). Это подтверждает необходимость Na<sup>+</sup> в просвете кишечника для связывания глюкозы с переносчиком в мембране эпителиоцитов.

Общая схема сопряжения разных процессов транспорта в эпителиоцитах дана на рис. 55. Перенос сахаров или аминокислот (S) и ионов натрия через апикальную мембрану эпителиоцитов осуществляется в виде тройного комплекса SCNa<sup>+</sup>, образующегося со стороны просвета и распадающегося на цитоплазматической поверхности. При этом ионы натрия перемещаются внутрь эпителиоцитов по градиенту концентрации, так как концентрация их

в просвете кишки ( $c_{п}$ ) выше, чем в цитоплазме ( $c_{ц}$ ). Одновременно ионы натрия идут по градиенту электрического поля, поскольку потенциал на апикальной мембране имеет знак «минус» внутри (см. рис. 55). Следовательно, ионы натрия входят в эпителиоциты пассивно, по электрохимическому градиенту. Из клеток в серозную часть кишки ионы натрия транспортируются активно: против концентрационного градиента, так как  $c_{ц} < c_{к}$  ( $c_{к}$  — концентрация Na<sup>+</sup> в крови), и против электрического поля (на базальной мембране потенциал имеет знак «плюс» снаружи). Этот активный транспорт выполняется Na<sup>+</sup>—K<sup>+</sup>-АТФ-азой (белок C<sub>1</sub> на рис. 55) за счет энергии гидролиза АТФ. Активный перенос ионов натрия на базальной мембране и приводит к тому, что концентрация их в цитоплазме ниже, чем в просвете кишки. Таким образом, для самого по себе процесса переноса сахаров и аминокислот против их концентрационного градиента энергия АТФ собственно не требуется. Его движущей силой оказывается градиент концентрации ионов натрия. Такое явление называют *вторичным активным транспортом*, подчеркивая тем самым, что он становится возможным лишь благодаря первичному активному транспорту ионов натрия через базальную мембрану эпителиоцитов. Из цитоплазмы эпителиоцитов в серозную часть сахара и аминокислоты диффундируют уже совершенно пассивно по градиенту концентрации ( $c_{ц} > c_{к}$ ). Есть сведения о том, что транспорт этих веществ через базальную мембрану эпителиоцитов тонкой кишки происходит с участием еще одного переносчика, но уже без ионов натрия.

По сходному механизму происходит транспорт сахаров, аминокислот и ионов натрия и в проксимальном канальце нефронов почки.

#### 7.4. ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ ПРИ АКТИВНОМ ТРАНСПОРТЕ ИОНОВ НАТРИЯ

Электрометрические измерения показали, что между просветом кишечника и серозой существует разность потенциалов со знаком «плюс» на серозной поверхности эпителия (трансэпителиальная разность потенциалов, см. рис. 55). Она возникает в результате активного транспорта Na<sup>+</sup>; эта разность потенциалов увеличивается в присутствии сахаров, и эффект снимается флоридзином. Наличие трансэпителиальной разности потенциалов в кишечнике вы-



зывает диффузию других ионов, прежде всего анионов хлора из просвета в серозу по электрическому градиенту. В этом и состоит механизм транспорта ионов хлора из просвета кишки в кровь.

Для экспериментального определения потока ионов натрия или других ионов при активном трансэпителиальном транспорте широко применяется метод измерения так называемого короткозамкнутого тока, предложенный в 1949 г. Уссингом и Цераном для изучения переноса ионов натрия через изолированную кожу лягушки. Кожа лягушки и по сей день служит удобным модельным объектом для исследования механизма трансэпителиального транспорта ионов. Так как процесс активного переноса  $\text{Na}^+$  с мукозной стороны на серозную в коже лягушки близок по механизму к переносу ионов через эпителий в кишечнике и нефронах млекопитающих, на коже лягушки изучают механизм действия лекарственных веществ, направленного на транспортные системы в эпителии.

При изучении активного ионного транспорта по Уссингу и Церану с обеих сторон исследуемого объекта помещают одинаковый солевой раствор, содержащий необходимые ионы. Трансэпителиальную разность потенциалов, генерируемую в ходе активного переноса ионов, компенсируют напряжением от внешнего источника э. д. с., в результате чего пассивный направленный перенос всех ионов прекращается. Если в объекте происходит активный перенос данного иона, необходимо все время пропускать ток компенсации от внешнего источника, чтобы поддерживать разность потенциалов на объекте на нулевом уровне. Величина этого тока равна потоку иона, транспортируемого через эпителий активно.

#### 7.5. ТРАНСЭПИТЕЛИАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ВОДЫ. МЕХАНИЗМ ОСМОТИЧЕСКОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ МОЧИ

Движущей силой диффузионного транспорта воды через эпителий кишечника и нефронов служит градиент осмотического давления, который возникает в результате транспорта солей и органических соединений. Скорость транспорта воды зависит при этом не только от величины градиента осмотического давления, но и от водной проницаемости эпителия.

Низкой водной проницаемостью характеризуется стенка петли Генле юкстамедуллярных нефронов почки; это имеет решающее значение для производства в почке концентрированной мочи.

Конечная моча — гипертонический раствор. Концентрация осмотически активных частиц в выделяемой моче (выше 1 моль/л) в несколько раз больше, чем в крови (около 0,3 моль/л). Это получается потому, что почки выделяют продукты обмена в небольшом количестве воды. Последовательность событий при повышении осмотического давления мочи такова (рис. 56).

1. В восходящей ветви петли Генле нефрона  $\text{NaCl}$  транспортируется активно в тканевую жидкость (против концентрационного градиента), но это сопровождается выходом лишь небольшого количества воды, поскольку водная проницаемость стенки этой ветви мала. Поэтому в окружающем пространстве, включая места расположения нисходящей ветви и собирательных трубок, концентрация осмотически активных частиц оказывается довольно высокой.

2.  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  ( $\text{NaCl}$ ) пассивно входят в нисходящую ветвь петли, эпителий которой имеет высокую проницаемость для этих ионов при низкой проницаемости для воды; в результате осмотическое давление внутриканальцевой жидкости повышается.

3. В конечной части дистального сегмента нефрона вода выходит в кровь по осмотическому градиенту, возникшему вследствие падения концентрации  $\text{NaCl}$  в просвете канальца, и таким образом совершается транспорт воды, необходимый для осмотического концентрирования мочи. Окончательное концентрирование мочи происходит к моменту ее выхода из собирательных трубок в местах, где существует повышенное осмотическое давление тканевой жидкости (см. рис. 56).

Петля Генле юкстамедуллярных нефронов функционирует по принципу противотока, что обеспечивает возможность концентрирования мочи при низкой скорости активного транспорта ионов натрия. Для уяснения этого важно учитывать соотношение скорости течения жидкостей внутри канальцев и скорости диффузии соли в окружающем пространстве. Откачанный из данного участка восходящей ветви  $\text{NaCl}$  диффундирует в основном прямо в противоположащий и недалеко удаленный район нисходящей ветви. Течение жидкости в просвете петли гораздо быстрее диффу-

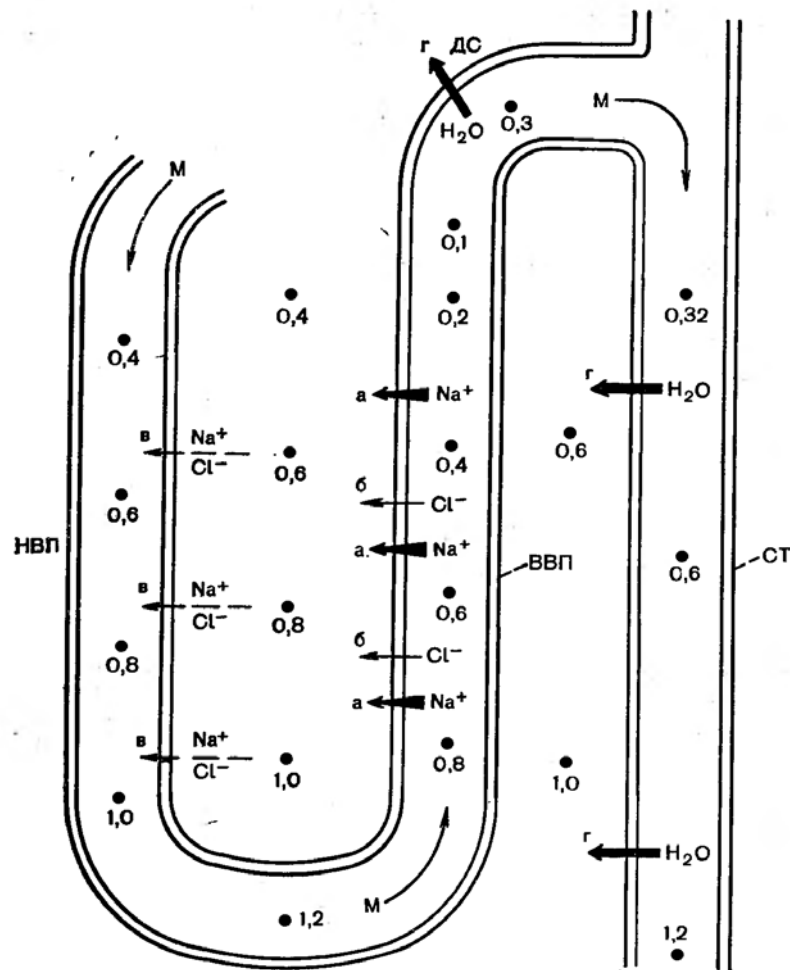


Рис. 56. Схема противотокового механизма осмотического концентрирования мочи.

Цифры обозначают примерные значения концентрации (моль/л) осмотически активных частиц на уровне расположения ближайшей черной точки; стрелки М, а, б, в, г обозначают конвекционное движение мочи, активный транспорт  $\text{Na}^+$  из просвета восходящей ветви петли (ВВП) Генле в окружающее пространство, выход  $\text{Cl}^-$  из ВВП, пассивный диффузионный вход  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в нисходящую ветвь петли (НВП) Генле, пассивный выход воды из дистального сегмента (ДС) нефрона или собирательной трубки (СТ).

зии вдоль ветвей, так что за счет поперечной диффузии концентрация осмотически активных частиц внутри и вокруг канальцев нарастает градуально по направлению к изгибу. Эта концентрированная жидкость поступает в восходящую ветвь, и в результате складывается такая ситуация, что везде в восходящей ветви активный транспорт  $\text{Na}^+$  совершается против небольшого концентрационного градиента (см. рис. 56). Разность концентраций осмотически активных частиц в окружающей среде и просвете для любого данного участка восходящей ветви составляет всего около 0,2 моль/л. Процесс концентрирования мочи происходит при сравнительно низкой скорости активного транспорта ионов натрия в отдельных сегментах восходящей ветви петли Генле.

## Глава 8

### МЕХАНИЗМ ЭЛЕКТРОГЕНЕЗА В КЛЕТКАХ

Генерация и распространение электрических потенциалов — важнейшее физическое явление в живых клетках и тканях, которое лежит в основе возбудимости клеток, регуляции внутриклеточных процессов, работы нервной системы, регуляции мышечного сокращения. Нарушение электрических характеристик отдельных клеток, нервных волокон и целых тканей, например сердечной ткани, приводит к ряду серьезных заболеваний.

Изучение механизма возникновения клеточных биопотенциалов стало возможным прежде всего благодаря применению методов клеточной электрофизиологии, в развитии которых важную роль сыграли, во-первых, разработка техники микроэлектродных отведений, во-вторых, создание специальных усилителей биопотенциалов, обладающих высоким входным сопротивлением (до  $10^{10}$  Ом), малой постоянной времени (от 10 мс) и высокой чувствительностью (токи от  $10^{-12}$  А) и, наконец, в-третьих, выбор удачных объектов исследования, начиная от гигантского аксона кальмара и гигантских нейронов пресноводных моллюсков и кончая разнообразными модельными мембранами.

Использование результатов электрофизиологических опытов в сочетании с физическим и математическим моделированием транспортных процессов лежит в основе современных теорий электрогенеза в клетках.

В покое, нормально функционирующей живой клетке всегда имеется разность потенциалов между цитоплазмой и окружающей средой, называемая *потенциалом покоя*. Возникновение потенциала покоя связано с неравенством концентрации ионов внутри клетки и в окружающей среде и неодинаковой проницаемостью клеточных мембран для разных ионов. Причины этой неравномерности распределения ионов и ее влияние на потенциал покоя могут, однако, различаться у разных клеток.

### 8.1. ДОННАНОВСКОЕ РАВНОВЕСИЕ И ПОТЕНЦИАЛ ДОННАНА

Доннановское равновесие устанавливается между клеткой и окружающей средой, если клеточная мембрана хорошо проницаема для неорганических ионов, но непроницаема для белков, нуклеиновых кислот и других крупных органических ионов. Наиболее характерно равновесие Доннана для мертвых клеток или для клеток с ослабленным метаболизмом.

В основе вывода уравнений, описывающих распределение ионов в доннановской системе, лежит условие электронейтральности, т. е. равенства суммарной концентрации анионов (в основном  $\text{Cl}^-$  и макромолекул  $\text{P}^-$ ) и катионов  $\text{K}^+$  как внутри клетки:

$$[\text{K}^+]_i = [\text{Cl}^-]_i + n [\text{P}^-]_i, \quad (8.1)$$

так и снаружи:

$$[\text{K}^+]_o = [\text{Cl}^-]_o + n [\text{P}^-]_o, \quad (8.2)$$

где  $n$  — число отрицательных зарядов на каждой белковой молекуле. В межклеточной жидкости содержание катионов значительно выше, чем макромолекул  $\text{P}^-$ ; это позволяет вместо (8.2) написать:

$$[\text{K}^+]_o = [\text{Cl}^-]_o = c_0, \quad (8.3)$$

где  $c_0$  — молярная концентрация электролитов во внеклеточной среде.

С другой стороны, между концентрацией проникающего иона и потенциалом имеется соотношение (см. уравнение 1.9):

$$\frac{[\text{K}^+]_i}{[\text{K}^+]_o} = \frac{[\text{Cl}^-]_i}{[\text{Cl}^-]_o} = e^{-\psi} = r, \quad (8.4)$$

где  $\psi$  — безразмерный потенциал (уравнение 1.8), величина  $r$  — так называемое *отношение Доннана*.

Условие доннановского равновесия следует из уравнения (8.4):

$$[\text{K}^+]_i [\text{Cl}^-]_i = [\text{K}^+]_o [\text{Cl}^-]_o. \quad (8.5)$$

В мышечных клетках неравномерное распределение калия между клеткой и средой, определяемое работой  $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATP}$ -азы, создает мембранный потенциал  $\varphi_m$ , который в свою очередь обеспечивает «доннановское» распределение хлора в соответствии с уравнением (8.4). В эритроцитах доннановское равновесие само создает мембранный потенциал. Величину этого потенциала можно получить из уравнений (8.3) и (8.4):

$$[\text{K}^+]_i = c_0 e^{-\psi}; \quad [\text{Cl}^-]_i = c_0 e^{\psi}. \quad (8.6)$$

Подставив полученные величины в уравнение (8.1), получаем:

$$e^{-\psi} - e^{\psi} = n [\text{P}^-]_i / c_0. \quad (8.7)$$

Обычно концентрация белков в клетке имеет порядок величины 1 мМ, число зарядов  $n$  равно 10—20 на молекулу, а концентрация электролитов в окружающей среде около 150 мМ, т. е.  $n[\text{P}^-]_i / c_0 = 0,1$ .

Из математики известно, что выражение  $(e^x - e^{-x})$ , если его величина  $\ll 1$ , приблизительно равно  $2x$  (при  $x = 0,1$  с точностью до 0,03%).

Отсюда:

$$\psi = \frac{F}{RT} \varphi = - \frac{n [\text{P}^-]_i}{2c_0}. \quad (8.8)$$

При 310 К  $\varphi$  (мВ) =  $-13,36 n[\text{P}^-]_i / c_0$ . Таким образом, доннановский потенциал прямо пропорционален концентрации белков в клетке и обратно пропорционален концентрации окружающего электролита. Например, при  $c_0 = 150$  мМ,  $n = 15$  и  $[\text{P}^-]_i = 1$  мМ,  $\varphi = -1,4$  мВ. Мы видим, что доннановские потенциалы невелики; они ни в какой мере не могут объяснить высокие значения потенциалов покоя большинства живых клеток — минус 60 — минус 90 мВ в нервных и мышечных клетках.

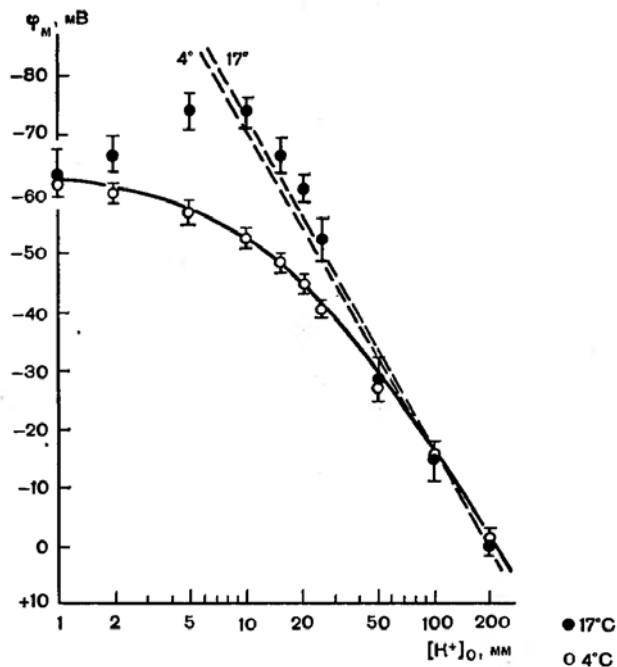


Рис. 57. Зависимость потенциала покоя гигантского аксона кальмара от концентрации  $K^+$  в среде. Величины  $[K^+]$  представлены в логарифмическом масштабе. При  $4^\circ C$  потенциал покоя (светлые кружочки) не подчиняется уравнению Нернста (пунктирная линия), а подчиняется уравнению Гольдмана (сплошная кривая). При  $17^\circ C$ , когда работает система активного транспорта  $Na^+$  и  $K^+$ , потенциал покоя (черные кружочки) ближе к рассчитанному по уравнению Нернста (пунктирная линия), чем при  $4^\circ C$ , когда  $Na^+ - K^+ - ATФ$ -аза неактивна [Горман, Мармор, 1970].

## 8.2. РАВНОВЕСНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ

В 1902 г. Бернштейн выдвинул гипотезу, согласно которой потенциал покоя обусловлен тем, что цитоплазматическая мембрана проницаема для ионов  $K^+$  и на ней создается потенциал, описываемый уравнением Нернста (1.7). Это предположение было подтверждено многими исследователями и на многих объектах. На рис. 57 приведена зависимость потенциала на мембране гигантского аксона кальмара от внеклеточной концентрации ионов  $K^+$ : видно, что между  $\phi_m$  и  $\ln[K^+]_0$  при высоких  $[K^+]_0$  имеется линейная зависимость, вытекающая из уравнения (1.7):

$$\phi_m = \frac{RT}{F} \ln [K^+]_i - \frac{RT}{F} \ln [K^+]_o. \quad (8.9)$$

Однако на этом же графике видно, что при низких концентрациях  $K^+$  данные опытов расходятся с расчетными. Из данных табл. 5 можно видеть, что хотя равновесные калиевые потенциалы, рассчитанные по уравнению Нернста, близки к измеряемым потенциалам покоя в исследованных клетках, они все же от них отличаются. Это показывает, что «калиевая теория» потенциала покоя несовершенна и не полностью объясняет наблюдаемые факты.

## 8.3. СТАЦИОНАРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГОЛЬДМАНА — ХОДЖКИНА

Причина отклонения потенциала на мембране от потенциала Нернста — проницаемость мембраны не только для  $K^+$ , но и для других ионов.

Для количественного описания потенциала в условиях проницаемости мембраны для нескольких ионов Ходжкин и Катц использовали представление о том, что потенциал покоя не равновесный, а стационарный по своей природе, т. е. он отражает состояние системы, когда через мембрану непрерывно идут встречные потоки ионов  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  и других. Суммарный поток положительно заряженных частиц через мембраны равен сумме потоков одновалентных катионов минус сумма потоков одновалентных анионов. Основной вклад в суммарный поток зарядов практически во всех клетках вносят ионы  $Na^+$ ,  $K^+$  и  $Cl^-$ . Поэтому

$$\Phi = \Phi_{Na^+} + \Phi_{K^+} - \Phi_{Cl^-}. \quad (8.10)$$

Будем считать, что величина  $\Phi$  отрицательна, если поток направлен из клетки в окружающую среду, и положительна, если поток направлен в клетку.

Наличие суммарного потока приведет к изменению потенциала на мембране; скорость этого изменения зависит от емкости мембраны. Связь между плотностью тока  $j$  ( $A/m^2$ ), удельной емкостью  $C$  ( $F/m^2$ ) и потенциалом  $\phi$  (В) известна из курса физики:

$$\frac{d\phi}{dt} = \frac{j}{c}, \quad (8.11)$$

где  $d\phi/dt$  — скорость изменения потенциала (В/с). При этом величина плотности тока  $j$  связана с плотностью потока одновалентных катионов  $\Phi$  (моль/м<sup>2</sup> · с), соотношением  $j = \Phi F$ , где  $F$  — число Фарадея.

Таблица 5

Содержание ионов  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$ , равновесные потенциалы, потенциалы покоя и действия некоторых клеток

Клетки	Отношение концентраций, внутренней к внешней, мМ			Равновесный нернстовский потенциал для разных ионов, мВ			Измеренные потенциалы, мВ	
	$[K^+]_i$ $[K^+]_o$	$[Na^+]_i$ $[Na^+]_o$	$[Cl^-]_i$ $[Cl^-]_o$	$K^+$	$Na^+$	$Cl^-$	Покоя	На максимуме спайка
Гигантский аксон каракатицы	340	49	114	-88	+57	-42	-60	+50
	10,4	463	592	-90	+46	-29	-60	+35
Аксон кальмара	360	69	157	-98	+49	-105	-88	+34
Мышечное волокно лягушки	10,0	425	496	-90	+60	-70	-70	+30
	(48:1)	(1:7)	(1:64)	-98	+49	-105	-88	+34
Моторный нейрон кошки	150	15	9	-90	+60	-70	-70	+30
	5,5	150	125	-90	+60	-70	-70	+30

Примечание. В скобках даны относительные концентрации ионов.

Возникающий потенциал (поляризация мембраны) тормозит дальнейший перенос ионов, так что в конце концов суммарный ток через мембрану прекратится и система придет в состояние, когда  $j = 0$  и  $\Phi = 0$ . При этом система не обязательно придет в равновесие, так как нулевое значение суммарного потока заряженных частиц еще не означает отсутствие составляющих его потоков отдельных ионов. И  $\Phi_{Na^+}$ , и  $\Phi_{K^+}$ , и  $\Phi_{Cl^-}$  могут не быть равны нулю по отдельности, а тем не менее:

$$\Phi = \Phi_{Na^+} + \Phi_{K^+} - \Phi_{Cl^-} = 0. \quad (8.12)$$

Для простоты дальнейших преобразований примем вначале, что поток хлора равен нулю, откуда:

$$\Phi_{Na^+} = -\Phi_{K^+}. \quad (8.13)$$

Величина потоков  $Na^+$  и  $K^+$  зависит от градиента их концентрации на мембране и от мембранного потенциала в соответствии с уравнением (6.11):

$$-\Phi_{K^+} = P_{K^+} \psi \frac{[K^+]_i - [K^+]_o}{1 - e^{-\psi}} e^{-\psi}, \quad (8.14)$$

$$-\Phi_{Na^+} = P_{Na^+} \psi \frac{[Na^+]_i - [Na^+]_o}{1 - e^{-\psi}} e^{-\psi}. \quad (8.15)$$

(Для  $K^+$  и  $Na^+$   $z = 1$ .)

Подставив (8.14) и (8.15) в уравнение (8.13) и проведя элементарные преобразования, получим:

$$e^{-\psi} = \frac{P_{K^+} [K^+]_i + P_{Na^+} [Na^+]_i}{P_{K^+} [K^+]_o + P_{Na^+} [Na^+]_o}. \quad (8.16)$$

Найдем  $\psi$  по определению логарифма, а затем выразим мембранный потенциал не в безразмерных единицах ( $\psi$ ), а в вольтах ( $\varphi_m$ ) в соответствии с уравнением (1.8):

$$\varphi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{K^+} [K^+]_o + P_{Na^+} [Na^+]_o}{P_{K^+} [K^+]_i + P_{Na^+} [Na^+]_i}. \quad (8.17)$$

Если ввести в рассмотрение также и ионы  $Cl^-$  (уравнение (8.12)), то, повторив предыдущие рассуждения, можно получить уравнение потенциала для трех ионов:

$$\varphi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{K^+} [K^+]_o + P_{Na^+} [Na^+]_o + P_{Cl^-} [Cl^-]_i}{P_{K^+} [K^+]_i + P_{Na^+} [Na^+]_i + P_{Cl^-} [Cl^-]_o}. \quad (8.18)$$

Уравнение (8.18) называется уравнением стационарного потенциала Гольдмана — Ходжкина — Каца или (проще) *уравнение Гольдмана*.

Всякое равновесие можно рассматривать как частный случай стационарного состояния. Уравнение Нернста — это частный случай уравнения Гольдмана: (8.18) переходит в (1.7), если проницаемость для одного из ионов гораздо выше, чем для других. Например, в гигантском аксоне кальмара  $P_{K^+} : P_{Na^+} : P_{Cl^-} = 1 : 0,04 : 0,045$ , т. е. проницаемость для  $K^+$  заметно выше, чем для других ионов. Таким образом,  $P_{K^+} \gg P_{Na^+}$  и  $P_{K^+} \gg P_{Cl^-}$ , поэтому числитель и знаменатель в уравнении (8.18) приблизительно равны соответственно  $P_{K^+} [K^+]_o$  и  $P_{K^+} [K^+]_i$ , благодаря чему уравнение (8.18) превращается в уравнение Нернста для  $K^+$ .

Важно подчеркнуть, что мембранный потенциал определяется не абсолютными, а относительными величинами проницаемости для ионов. Мы можем, например, ввести такие обозначения:  $\rho_{Na} = P_{Na}/P_K$ ;  $\rho_{Cl} = P_{Cl}/P_K$ . Тогда, разделив в уравнении Гольдмана числитель и знаменатель на  $P_K$ , получаем:

$$\varphi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_o + \rho_{Na} [Na^+]_o + \rho_{Cl} [Cl^-]_i}{[K^+]_i + \rho_{Na} [Na^+]_i + \rho_{Cl} [Cl^-]_o} \quad (8.19)$$

Практически во всех изученных к настоящему времени случаях потенциалы на клеточной мембране могут быть описаны уравнением Гольдмана, если относительные проницаемости  $\rho_{Na}$  и  $\rho_{Cl}$  выбраны правильно. На рис. 57 видно, что рассчитанный по уравнению Гольдмана потенциал гигантского аксона кальмара (сплошная кривая) совпадает с экспериментально найденными точками (o) при всех внешних концентрациях KCl. Это говорит о правильности значений  $\rho_{Na}$  и  $\rho_{Cl}$ , использованных при расчетах ( $\rho_{Na} = 0,04$ ;  $\rho_{Cl} = 0,45$ ).

#### 8.4. ПОТЕНЦИАЛ ПРИ РАБОТЕ ЭЛЕКТРОГЕННОЙ ПОМПЫ

Поток ионов, создаваемый мембранным насосом  $Na^+$  —  $K^+$ -АТФ-азой, также может участвовать в формировании стационарного потенциала. Это происходит потому, что при каждом цикле работы этого фермента в большинстве клеток (см. с. 132) ионов  $Na^+$  (3) выводится больше, чем ионов  $K^+$  (2). Суммарный поток положительных зарядов, направленных из клетки в окружающую среду, приводит к увеличению (по абсолютной величине) отрицательного потенциала внутри клетки. (Напомним, что потенциал среды принимается за нуль.) Рассмотрим этот вопрос количественно. Если в клетке установилось стационарное состояние, активные потоки  $Na^+$  и  $K^+$  через мембраны ( $\Phi_{Na^+, акт.}$  и  $\Phi_{K^+, акт.}$ ) в точности компенсируются пассивными потоками («утечками»), обусловленными проницаемостью мембраны:

$$\Phi_{K^+, акт.} = -\Phi_{K^+} - \Phi_{Na^+, акт.} = \Phi_{Na^+} \quad (8.20)$$

Как уже говорилось, при работе АТФ-азы имеется определенная стехиометрия между активно перенесенными  $Na^+$  и  $K^+$ :

$$-\Phi_{Na^+, акт.} / \Phi_{K^+, акт.} = \kappa, \quad (8.21)$$

причем  $\kappa$  для большинства АТФ-аз равен 3:2. [Знак «минус» в уравнениях (8.20—8.21) указывает на противоположную направленность потоков.]

Путем подстановки (8.20) в (8.21) получаем:

$$\Phi_{Na^+} = -\kappa \Phi_{K^+} \quad (8.22)$$

Таким образом, в ситуации, когда утечка ионов через мембрану компенсируется работой помпы [т. е. соблюдаются уравнения (8.20) и (8.21)], пассивные потоки при  $\kappa \neq 1$  связаны уравнением, отличным от (8.13). Потоки ионов описываются уравнениями (8.14) и (8.15). Подставив эти выражения в уравнение (8.22) и проведя преобразования, аналогичные изложенным в разделе 8.3, получаем выражение для потенциала:

$$\varphi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{\kappa P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o}{\kappa P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i} \quad (8.23)$$

Это уравнение, полученное в 1972 г. Томасом, как и уравнение Гольдмана, превращается в уравнение Нернста при  $P_K \gg P_{Na}$ . Однако если это не так,  $\varphi_m$  будет разным при наличии помпы и в ее отсутствие, как легко видеть, сопоставив выражения (8.23) и (8.17). Как же будут различаться потенциалы в этих случаях? Для ответа на этот вопрос остановимся на анализе уравнений (1.7), (8.17) и (8.23).

1. Поскольку в мембранах покоящихся клеток  $P_K > P_{Na}$ , а  $\kappa > 1$ , то заведомо  $\kappa P_K > \kappa P_{Na}$ ; по этой причине мембранный потенциал покоя ближе к равновесному потенциалу для  $K^+$ , чем для  $Na^+$ , и имеет отрицательный знак (см. табл. 5).

2. Равновесный потенциал для  $Na^+$ , рассчитанный по уравнению Нернста, положителен (см. табл. 5), поэтому рост проницаемости мембран для ионов натрия уменьшает абсолютную величину отрицательного мембранного потенциала в клетках, а рост проницаемости для ионов калия увеличивает эту величину. В целом потенциал, рассчитанный по уравнениям (8.17) и (8.23), по абсолютной величине ниже нернстовского калиевого потенциала (1.7) (см. табл. 5).

3. Поскольку  $\kappa > 1$  (обычно  $\kappa = 3:2$ ), то влияние этого множителя в уравнении (8.27) эквивалентно увели-

чению  $R_k$ . В свете сказанного в предыдущем пункте это означает, что потенциал, рассчитанный по уравнению (8.23), по абсолютной величине выше обычного гольдмановского потенциала (8.17).

Величина потенциала покоя, различная у разных клеток, может изменяться при изменении условий их жизнедеятельности. Для неповрежденных нервных клеток характерны высокие значения потенциала покоя, обусловленные низкой общей проницаемостью мембран и значительным различием проницаемости для  $K^+$  и  $Na^+$  [уравнение (8.23)]. Нарушение биоэнергетических потенциалов в клетке, сопровождающееся падением внутриклеточного уровня макроэргических соединений, прежде всего исключает компоненту потенциала покоя, связанную с работой  $Na^+ - K^+ - ATP$ -азы [потенциал описывается теперь уравнением (8.17)]. Повреждение клетки приводит обычно к неспецифическому повышению проницаемости клеточных мембран, в результате чего различие в коэффициентах проницаемости для ионов калия и натрия уменьшается; потенциал покоя при этом также снижается [это ясно из уравнения (8.17)]. В пределе у сильно поврежденных клеток он может снизиться до уровня доннановского потенциала, когда происходит перераспределение ионов, определяемое уже не работой ионных насосов, а содержанием полианионов в клетке (уравнение 8.8).

### 8.5. ПОТЕНЦИАЛ ДЕЙСТВИЯ

При возбуждении нервных клеток, клеток мышцы и даже клеток водорослей между внутриклеточной средой и окружающим раствором возникает изменение мембранного потенциала, напоминающее затухающее колебание и называемое *потенциалом действия* (рис. 58). В миелинизированных нервных волокнах потенциал действия возникает («генерируется») в перехватах Ранвье, а затем передается от одного перехвата к другому чисто электрическим путем (по тому же механизму, что и передача телеграфных сообщений по электрическому кабелю). В безмиелиновых нервных волокнах каждый участок волокна, воспринимая электрический сигнал от соседних участков нерва, генерирует потенциал действия, который затем распространяется дальше (рис. 59). Мы рассмотрим сначала механизм возникновения потенциала действия в опре-

Рис. 58. Потенциалы действия гигантского аксона кальмара (а), волокна скелетной мышцы лягушки (б) и волокна Пуркинье из сердца собаки (в).  $\Phi_m$  — потенциал (мВ);  $t$  — время (мс).

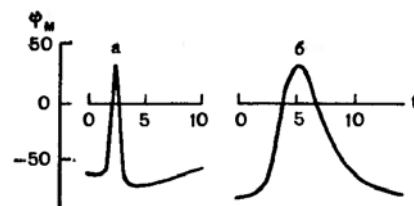
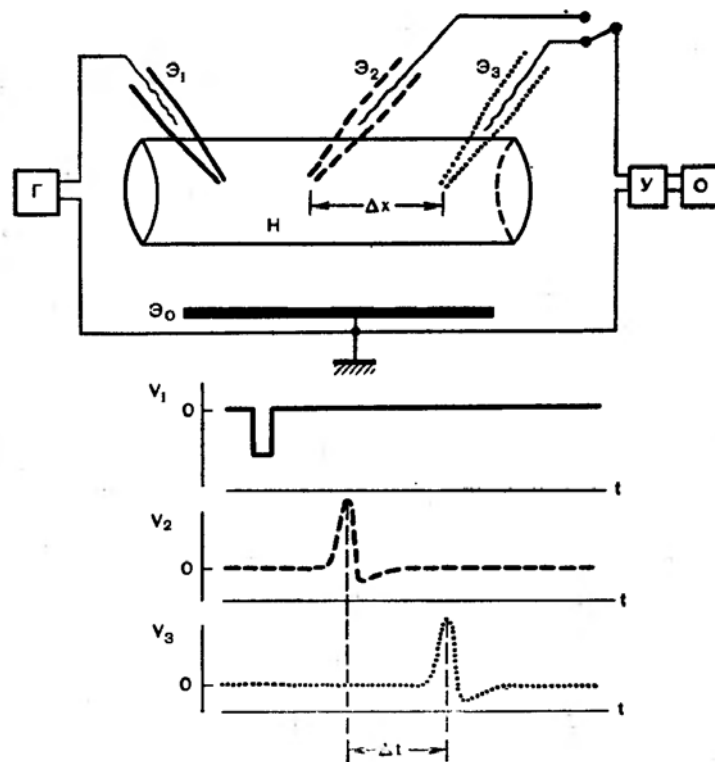
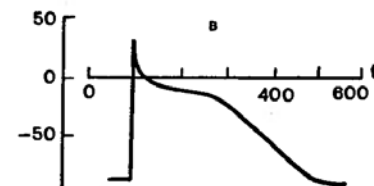


Рис. 59. Схема отведения потенциалов от аксона кальмара. Н — нервное волокно;  $\mathcal{E}_1$  — микроэлектрод для возбуждения волокна; Г — генератор П-образных деполяризующих электрических импульсов;  $\mathcal{E}_2, \mathcal{E}_3$  — микроэлектроды для измерения потенциала действия; У — усилитель; О — осциллограф;  $V_1$  — деполяризующий потенциал;  $V_2, V_3$  — потенциалы действия, измеренные электродами  $\mathcal{E}_2$  и  $\mathcal{E}_3$ ;  $\Delta x / \Delta t$  — скорость распространения потенциала действия.



деленном участке нервного волокна, а затем — *распространение* потенциала вдоль нерва.

В 1902 г. Овертон, а затем в 1912 г. Бернштейн предположили, что в основе появления потенциала действия лежит кратковременное повышение ионной проницаемости мембран возбудимых клеток. В 1939 г. Коулу и Куртису удалось измерить изменение сопротивления (импеданса) мембраны гигантского аксона кальмара во время распространения по нему потенциала действия. Оказалось, что в этот момент электропроводность мембраны резко возрастает и ход кривой ее изменения во времени в первом приближении повторяет форму потенциала действия.

Естественен вопрос, для каких именно ионов происходит увеличение проницаемости мембраны при возбуждении. Обратимся к табл. 5. Из приведенных в ней данных видно, что как равновесный потенциал для калия, так и равновесный потенциал для хлора лежат в области отрицательных величин. Поэтому увеличение проницаемости для одного из этих ионов никак не может объяснить появление положительного потенциала внутри клетки в максимуме потенциала действия. И лишь равновесный потенциал натрия во всех клетках имеет положительное значение. Таким образом, объяснить потенциал действия можно только резким возрастанием  $P_{Na}$ . Возвращение потенциала к отрицательным значениям означает снижение  $P_{Na}$  и одновременное увеличение  $P_K$ . Все данные, накопленные в настоящее время, подтверждают такую трактовку.

#### 8.6. ИОННЫЕ ТОКИ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ

Прямые опыты, показывающие увеличение проницаемости мембран аксона для  $Na^+$  и  $K^+$  при возникновении потенциала действия, были проведены в 1951 г. Кейнесом и Льюисом, которые показали, что при возбуждении аксона происходит перенос радиоактивных ионов  $^{42}K$  и  $^{24}Na$  через мембрану. Измеряя радиоактивность после многократного прохождения спайка, эти авторы подсчитали, что в момент возникновения одного импульса через каждый квадратный микрон поверхности волокна проходит около 20 000 ионов  $Na^+$  и столько же ионов  $K^+$ . Однако в этих опытах невозможно было проследить за изменением проницаемости мембран в ходе развития потенциала действия, так как последний протекает очень бы-

стро (за 1—2 мс), а количество ионов, прошедших через мембрану за один импульс, слишком мало для аналитического определения. Непосредственно измерить кинетику изменения проницаемости мембран для ионов в мембранах при возбуждении удалось в 1949—1952 гг. Ходжкину, Хаксли и Катцу на гигантском аксоне кальмара. В этих опытах измеряли ионные токи через мембрану, на которую подавалась определенная разность потенциалов  $\Phi_m$ . Зная плотность тока  $j$  ( $A \cdot m^{-2}$ ), обусловленного переносом через мембрану данного иона, можно найти величину потока  $\Phi$  (моль  $\cdot m^{-2} \cdot c^{-1}$ ) этого иона через мембрану:  $\Phi = j/F$ , где  $F$  — число Фарадея, а затем рассчитать коэффициент проницаемости  $P$ , используя уравнения типа 6.11 (за положительное принимаем направление потока из клетки)

$$P = \frac{\Phi(1 - e^{\psi})}{\psi(c_0 - c_1 e^{\psi})} \quad (8.24)$$

Для некоторых мембран, в том числе и для мембраны аксона кальмара, справедливо более простое выражение:

$$P = \Phi/(\psi - \psi_0), \quad (8.25)$$

где  $\psi_0$  — равновесный нернстовский потенциал для данного иона (см. уравнение 1.9). Уравнение (8.25) может быть выведено из (8.24) для случая малых потенциалов на мембране, когда  $1 - e^{\psi} \cong \psi$ , либо получено непосредственно из уравнения Нернста — Планка (1.23).

Простая на первый взгляд задача: измерение плотности тока  $j$  через мембрану при определенном потенциале — практически трудно осуществима из-за того, что при возбуждении сопротивление мембраны быстро изменяется, а это приводит к перераспределению разности потенциалов между элементами электрической цепи, включающей в себя саму мембрану, источник потенциала и измерительный прибор. В итоге напряжение на мембране  $\Phi_m$  оказывается переменной величиной, несмотря на постоянство ЭДС источника. Чтобы поддерживать напряжение на мембране постоянным, независимо от изменений проницаемости мембраны и ионных токов, приходится использовать довольно сложные электронные устройства (приборы для фиксации потенциала).

Изменение проницаемости мембраны для ионов  $Na^+$ ,  $K^+$  (а во многих случаях и  $Ca^{2+}$ ) начинается с того момента, когда потенциал  $\Phi_m$  на мембране становится по абсолют-



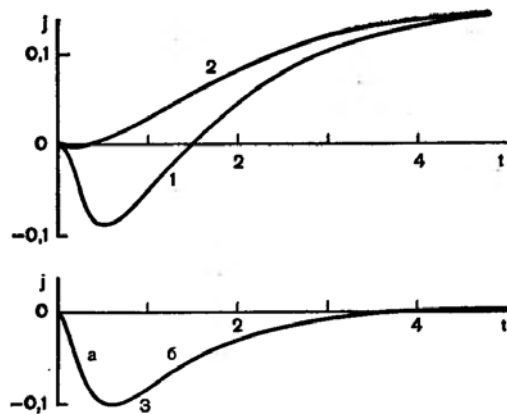


Рис. 60. Ионные токи, проходящие через мембрану при подаче на нее фиксированного деполяризующего потенциала.

1 — суммарный ток (в среде есть  $\text{Na}^+$ ); 2 — калиевый ток (в среде нет  $\text{Na}^+$ ); 3 — натриевый ток (кривая 1 минус кривая 2); а — участок открывания; б — участок инактивации каналов; j — плотности тока ( $\text{A}/\text{m}^2$ ); t — время (мс). Фиксированный потенциал на мембране равен потенциалу покоя минус 56 мВ [Ходжкин, Хаксли, 1952].

ной величине ниже потенциала покоя  $\varphi_r$ , т. е. если мембрану *деполяризовали*, причем потенциал деполяризации  $V = \varphi_m - \varphi_r$  превышает некоторый *пороговый потенциал*  $V_e$ . Пример кривых, полученных в классических исследованиях Ходжкина и Хаксли, приведен на рис. 60. Кривая 1 представляет собой изменение тока через мембрану аксона, помещенного в раствор Рингера после того, как потенциал на мембране был скачком изменен на +56 мВ по сравнению с исходным потенциалом покоя. Видно, что после такой деполяризации мембраны ток сначала направлен внутрь волокна (кривая идет вниз), причем этот ранний входящий ток усиливается во времени, а затем сменяется выходящим током (кривая 1 идет вверх). Ранний входящий ток обусловлен ионами натрия. Он исчезает, если в растворе, омывающем аксон, заменить весь  $\text{NaCl}$  на эквивалентное количество холин-хлорида (кривая 2). В этом случае сохраняется только выходящий ток, который развивается со временем и обусловлен выходом  $\text{K}^+$  из клетки. Разница между кривыми 1 и 2, очевидно, обусловлена ионным током натрия через мембрану (кривая 3).

Поскольку в течение всего опыта потенциал оставался постоянным, ясно, что все три кривые отражают изменение проницаемости мембраны нервного волокна во времени. Ходжкин с сотр. объяснили наблюдаемый ход кривой 3 тем, что после деполяризации мембраны постепенно открываются *каналы* (поры) в мембране для ионов натрия, а затем они еще более медленно инактивируются. Эти представления можно проиллюстрировать схемой (рис. 61).

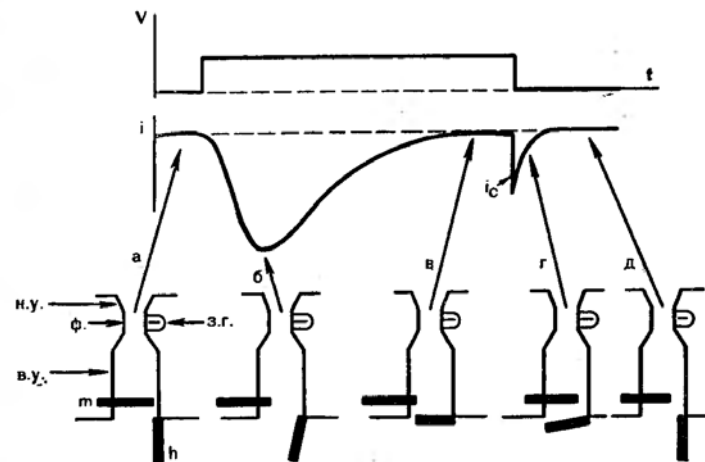


Рис. 61. Схема работы натриевых каналов в возбудимой мембране нервного волокна (по Б. И. Ходорову).

Вверху — значения потенциала, фиксированного на мембране и ионного тока: V — потенциал деполяризации; i — натриевый ионный ток (отн. ед.);  $i_c$  — емкостный ток, обусловленный разрядкой мембраны после сброса потенциала V. Внизу — схематическое изображение натриевого канала на разных стадиях развития ионного тока (см. стрелки): н. у. — наружное устье канала; в. у. — внутреннее устье канала; ф. — селективный фильтр; з. г. — отрицательно заряженная группа ( $\text{COO}^-$ ). m — активационные ворота, h — инактивационные ворота. Стадии: а, д — исходная, б — активация, в — инактивация, г — рефрактерность (нечувствительность к новому раздражению).

В покоем нервно волокне (а) натриевые каналы закрыты «воротами» m (назовем их *активационными*). Деполяризация мембраны приводит к открыванию этих ворот и усилению ионного тока (б). Однако затем начинают закрываться *инактивационные* ворота h (в). Возвращение мембранного потенциала покоя ( $V = 0$ ) сопровождается закрыванием «ворот» m, но мембрана остается невосприимчивой к следующей деполяризации (возбуждению), так как ворота h еще некоторое время остаются закрытыми (*рефрактерный период*).

## 8.7. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ КИНЕТИКИ ИОННЫХ ТОКОВ

Создание математической модели, т. е. уравнений, которые описывают наблюдаемые в опыте количественные закономерности может быть основано на логических рассуждениях (дедуктивный метод) или же непосредственно на данных эксперимента (индуктивный метод). Уравнение

Гольдмана, описывающее мембранный потенциал (8.18), было выведено дедуктивным методом после интегрирования электродиффузионного уравнения Нернста — Планка (1.23). Уравнения, описывающие изменение во времени ионных токов и зависимость этого процесса от потенциала деполяризации, были предложены Ходжкиным и Хаксли на основании анализа экспериментальных данных, в частности кривых типа 2 и 3 на рис. 60, измеренных при разных  $V$ . Эти уравнения выведены, таким образом, индуктивным методом.

Рассмотрим логику их вывода, несколько изменив используемую терминологию, но сохранив основные математические обозначения.

Процесс *открывания* канала можно рассматривать как некоторое событие, которое следует за процессом *активации* канала; возможные механизмы активации и открывания являются предметом интенсивных исследований и оживленных дискуссий, но мы на них останавливаться пока не будем. Каков бы ни был механизм активации канала при деполяризации мембраны, его можно рассматривать как вероятностный процесс, описываемый уравнением кинетики первого порядка:

Неактивный канал  $\xrightleftharpoons[\beta_m]{\alpha_m}$  Активированный канал;

$$\frac{dc}{dt} = \alpha_m(c_0 - c) - \beta_m c, \quad (8.26)$$

где  $c_0 - c$  и  $c$  — число неактивных и активированных каналов соответственно, а  $c_0$  — общее число каналов;  $\alpha_m$  и  $\beta_m$  — константы скоростей прямого и обратного процессов активации. Обозначим долю активных каналов через  $m = c/c_0$ . Очевидно, что доля неактивных каналов равна  $1 - m$ . Разделив уравнение (8.26) на  $c_0$  и подставив  $m$ , получим:

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(1 - m) - \beta_m m. \quad (8.27)$$

После разделения переменных и интегрирования находим:

$$m = \frac{\alpha_m}{\alpha_m + \beta_m} (1 - \exp[-(\alpha_m + \beta_m)t]), \quad (8.28)$$

где  $m = 0$  при  $t = 0$ .

При  $t \rightarrow \infty$ ,  $\exp[-(\alpha_m + \beta_m)t] \rightarrow 0$ .

откуда

$$m_\infty = \frac{\alpha_m}{\alpha_m + \beta_m}. \quad (8.29)$$

Величина  $(\alpha_m + \beta_m) = 1/\tau$ , где  $\tau$  — постоянная времени установления равновесия. Теперь уравнение (8.28) приобретает простой вид:

$$m = m_\infty (1 - e^{-t/\tau}). \quad (8.30)$$

График функции  $m(t)$ , описываемой таким уравнением, представляет собой кривую без перегибов и отличается по форме от кривой изменения во времени натриевого тока (см. рис. 60, участок  $a$  на кривой 3). Наилучшее соответствие теории и эксперимента получится, если предположить, что  $j_{Na} = j_{Na} \cdot m^3$ , где  $j_{Na}$  — плотность натриевого тока, если активирована часть каналов ( $m$ ), а  $j_{Na}$  — плотность тока, если активированы все каналы. Аналогичное уравнение может быть записано для удельной проводимости:

$$g_{Na} = \bar{g}_{Na} \cdot m^3, \quad (8.31)$$

где  $\bar{g}_{Na}$  — удельная проводимость мембраны при полностью открытых каналах. По определению удельная проводимость равна  $g = j/(\varphi - \varphi_0)$ , где  $\varphi_0$  — равновесный потенциал; в случае справедливости уравнения (8.25) проводимость  $g_{Na}$  связана с коэффициентом проницаемости  $P_{Na}$  уравнением:  $g_{Na} = P_{Na}F$ .

Следует подчеркнуть, что показатель степени 3 — эмпирически подобранная величина; физический смысл ее может быть различным. Одно из объяснений заключается в том, что для открывания активационных ворот (см. рис. 61) требуется три независимых события с вероятностью  $m$  каждое, т. е. нужно отпереть три «замка», чтобы раскрылись ворота. Позднее давались и другие трактовки того факта, что не всякая активация приводит к открыванию канала, а между долей активированных каналов  $m$  и долей открытых ворот ( $m^3$ ) существует степенная зависимость с показателем 3.

Способ составления уравнения, описывающего инактивацию натриевых каналов (это соответствует участку  $b$  кривой 3 на рис. 60) аналогичен. Инактивация рассматривается как мономолекулярная реакция, которой подвергаются в равной мере и открытые и закрытые каналы. Доля неинaktivированных каналов принимается равной

$h$ , а инактивированных —  $(1 - h)$ . Процесс инактивации соответствует обратимой реакции:



После рассуждений, аналогичных изложенным для случая активации, получаем (заметим, что при  $t = 0$ ,  $h = h_0$ ):

$$h = h_\infty - (h_\infty - h_0) e^{-t/\tau_h}, \quad (8.33)$$

где

$$h_\infty = \frac{\alpha_h}{\alpha_h + \beta_h}; \quad \tau_h = \frac{1}{\alpha_h + \beta_h}. \quad (8.34)$$

Подобрав эмпирически величины  $h_\infty$  и  $\tau_h$ , можно получить кривую, совпадающую по форме с ветвью  $b$  экспериментальной кривой для натриевого тока (кривая 3, рис. 60). Зная  $h_\infty$  и  $\tau_h$  из уравнения (8.34), находим два неизвестных  $\alpha_h$  и  $\beta_h$ . Вся кривая натриевого тока (на участках  $a$  и  $b$ ) описывается уравнением:  $j_{Na} = j_{Na} \cdot m^3 h$ , а следовательно,

$$g_{Na} = \bar{g}_{Na} m^3 h, \quad (8.35)$$

поскольку вероятность того, что канал работает, равна произведению вероятностей независимых событий: того, что «открыты все замки» ( $m^3$ ) и того, что канал не инактивирован ( $h$ ). Величины  $m$  и  $h$  меняются при этом во времени согласно уравнениям (8.30) и (8.33). Подобрав коэффициенты  $\alpha_m$ ,  $\beta_m$ ,  $\alpha_h$  и  $\beta_h$ , можно, таким образом, получить теоретическую кривую изменения во времени  $Na^+$ -тока, которая практически совпадает с экспериментальной (т. е. кривой 3 на рис. 60).

Все эти рассуждения применимы и к калиевым каналам, если не считать того, что инактивируются они очень медленно. Калиевая проводимость равна:

$$g_K = \bar{g}_K \cdot n^2; \quad n = n_\infty - (n_\infty - n_0) e^{-t/\tau_n}, \quad (8.36)$$

где  $n$  — доля «отпертых замков» в калиевых каналах;

$$n_\infty = \alpha_n / (\alpha_n + \beta_n); \quad \tau_n = 1 / (\alpha_n + \beta_n); \quad \alpha_n \text{ и } \beta_n$$

константы скоростей прямого и обратного процессов активации калиевых каналов. Уравнение (8.36) при правильно подобранных параметрах  $\alpha_n$  и  $\beta_n$  хорошо описывает экспериментальную кривую 1 на рис. 60.

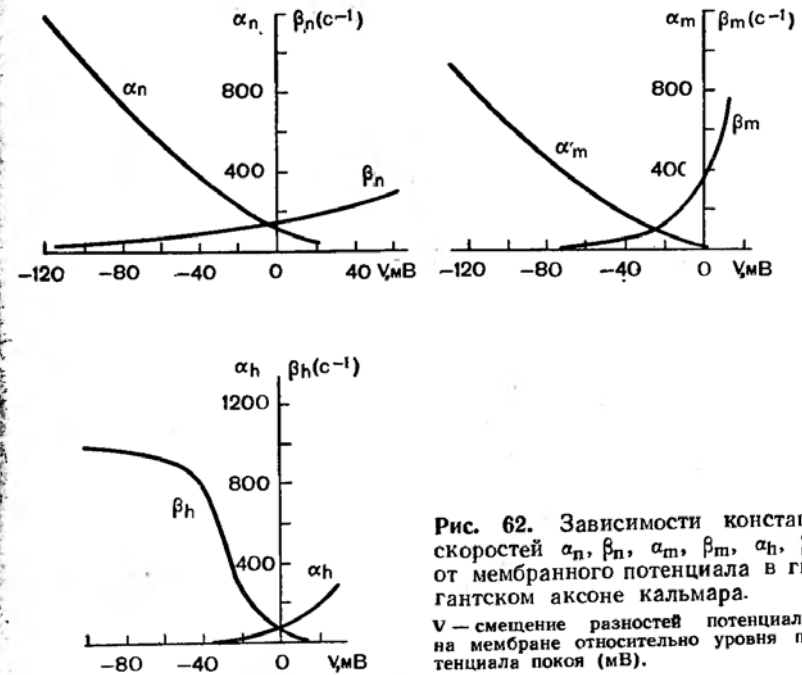


Рис. 62. Зависимости констант скоростей  $\alpha_n$ ,  $\beta_n$ ,  $\alpha_m$ ,  $\beta_m$ ,  $\alpha_h$ ,  $\beta_h$  от мембранного потенциала в гигантском аксоне кальмара.

$V$  — смещение разностей потенциалов на мембране относительно уровня потенциала покоя (мВ).

Зная величины  $g_{Na}$ ,  $g_k$  и  $g_L$  (удельная проводимость «утечки», т. е. всех остальных ионов), а также емкость мембраны  $C$  ( $\Phi \cdot m^{-2}$ ), можно теперь найти общий ток через мембрану в каждый момент времени ( $i_m$ ,  $A \cdot m^{-2} \cdot c^{-1}$ ):

$$i_m = C \frac{dV}{dt} + \bar{g}_{Na} m^3 h (\varphi_m - \varphi_{Na}) + \bar{g}_K n^2 (\varphi_m - \varphi_K) + g_L (\varphi_m - \varphi_i). \quad (8.37)$$

где  $\varphi_K$ ,  $\varphi_{Na}$  и  $\varphi_L$  — равновесные потенциалы для  $K^+$ ,  $Na^+$  и всех остальных ионов. Полученные кривые изменения тока во времени при правильно подобранных параметрах  $\alpha_m$ ,  $\beta_m$ ,  $\alpha_n$ ,  $\beta_n$ ,  $\alpha_h$  и  $\beta_h$  практически совпадают с экспериментальными при всех использованных в опытах концентрациях внутри — и внеклеточного калия и натрия.

Кривые 1 и 3 на рис. 60 были получены при определенном значении потенциала  $V$ . Между тем кинетика изменения ионных токов, а следовательно, значения параметров  $\alpha_m$ ,  $\beta_m$ ,  $\alpha_n$ ,  $\beta_n$ ,  $\alpha_h$  и  $\beta_h$  зависят от величины  $V$  (рис. 62). Эти зависимости могут быть в свою очередь описаны эмпи-

рически подобранными уравнениями. Например, для гигантского аксона кальмара Ходжкин и Хаксли нашли, что

$$\alpha_m = 0,1 (V - 25) \left/ \left( 1 - \exp \frac{25 - V}{10} \right) \right., \quad (8.38)$$

$$\beta_m = 4 \exp \left( - \frac{V}{18} \right), \quad (8.39)$$

где  $V$  дан в милливольтках. Были найдены эмпирические уравнения, описывающие зависимость от  $V$  и других параметров:  $\alpha_n$ ,  $\beta_n$ ,  $\alpha_h$  и  $\beta_h$ .

Вся совокупность уравнений, описывающих ионные токи через возбудимые мембраны при изменении потенциала на величину  $V$ , называется уравнениями Ходжкина — Хаксли. К ним относятся и уравнения (8.27)—(8.39). Использование этих уравнений позволяет математически описать не только ионные токи при фиксированном потенциале, но и изменения потенциала в функционирующем нервном волокне. Изменения проницаемости мембраны при первоначальной деполяризации мембраны приводят к изменению потенциала (уравнение 8.18). Это сопровождается изменением параметров  $\alpha$  и  $\beta$  [уравнения (8.38), (8.39),

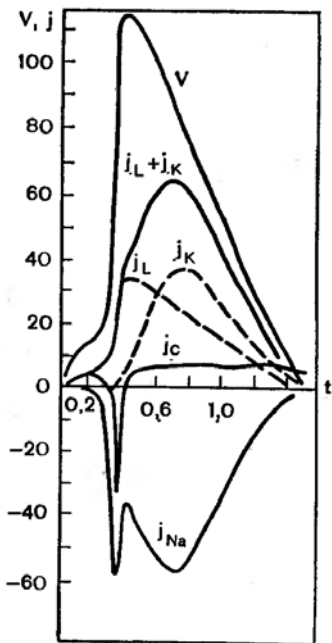


Рис. 63. Математическое моделирование нервного импульса.

$j_{Na}$ ,  $j_K$ ,  $j_C$ ,  $j_L$  — плотности натриевого, калиевого, емкостного тока и тока утечки ( $A/m^2$ );  $V$  — потенциал действия (мВ) [Ходоров Б. И., 1969].

трудоёмко, но может быть осуществлен с использованием уравнений Ходжкина — Хаксли. В настоящее время такие расчеты для разных возбудимых структур проводятся с использованием ЭВМ. Один из примеров, рассчитанных кривых дан на рис. 63. Хорошее совпадение рассчитанных и измеренных в опыте потенциалов действия еще раз подтверждает правильность математической модели Ходжкина — Хаксли.

### 8.8. СЕЛЕКТИВНОСТЬ ИОННЫХ КАНАЛОВ

При замене  $NaCl$  в растворе, окружающем нервные волокна, на  $LiCl$  или хлориды аммония, гидроксиламмония и некоторых других катионов, форма кривой входящего тока (кривая 3 на рис. 60) не изменяется, изменяется величина этого тока. Это говорит о том, что натриевые каналы открываются по-прежнему, но вместо  $Na^+$  через них снаружи внутрь проходит теперь другой катион:  $Li^+$  или  $NH_4^+$ ; чем выше проницаемость каждого натриевого канала для данного катиона, тем больше будет ток через этот канал. Например, для  $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Rb^+$  и  $Cs^+$  относительная проницаемость натриевых каналов в мембранах аксонов моллюсков характеризуется рядом:  $P_{Li} : P_{Na} : P_K : P_{Rb} : P_{Cs} = 110 : 100 : 8 : 2,5 : 1,7$ . В мембранах перехвата Ранвье нервных волокон этот ряд выглядит так:  $P_{Li} : P_{Na} : P_K = 94 : 100 : 9$ . Мы видим, что натриевые каналы в 11—12 раз лучше пропускают  $Na^+$ , чем  $K^+$ . В то же время ряд проницаемостей для  $K^+$ -каналов показывает их калиевую селективность:  $P_{Li} : P_{Na} : P_K : P_{Rb} : P_s = 1,8 : 1 : 100 : 91 : 8$ .

Причину селективности каналов нужно искать в особенностях их строения. Натриевые каналы, по всей видимости, представляют собой белковые образования. УФ-облучение инактивирует натриевые каналы, причем максимум в спектре действия инактивации лежит при 280 нм, т. е. соответствует максимуму в спектре поглощения белков. Протеолитические ферменты, такие как папаин и фицин, гидролизуют тот участок натриевого канала, который ответственен за его инактивацию. По-видимому, белковую природу имеют и калиевые каналы.

Рассмотрим строение этих каналов на примере натриевого канала.

Согласно современным представлениям, каждый канал состоит по крайней мере из трех участков, различающихся

по ширине просвета: наружного устья, селективного фильтра и внутреннего устья (см. рис. 61); кроме того, имеются устройства, обеспечивающие открывание и перекрывание канала (*m*- и *h*-«ворота» на рис. 61). Селективность канала обеспечивается стерическим соответствием наиболее узкой части канала и гидратированного иона, а также силой электростатического взаимодействия иона с заряженными группами в области селективного фильтра.

В устья канала могут заходить молекулы некоторых веществ, которые перекрывают просвет и тем самым ингибируют работу канала. К таким соединениям относится, например, паралитический яд тетродотоксин, который содержится во внутренних органах рыбы-шар (*Spherooides*) и блокирует  $\text{Na}^+$ -каналы. Место, куда входит тетродотоксин, расположено на стороне натриевого канала, обращенной наружу, изнутри нервного волокна этот яд не действует.

Как уже говорилось, открывание, закрывание и инaktivирование каналов регулируется потенциалом на мембране. Очевидно, изменение потенциала приводит в движение какие-то заряженные участки («ворота») в канале, и это движение открывает или закрывает канал. Движение заряженных частиц должно сопровождаться слабым током, который предшествует основному току, вызванному движением ионов  $\text{Na}^+$  или  $\text{K}^+$  через канал. Такие очень кратковременные и слабые «воротные токи» сейчас обнаружены.

Электрический потенциал, действующий на «ворота», складывается из трансмембранного потенциала и локальных потенциалов, создаваемых заряженными группами вблизи «ворот». В число таких заряженных групп входят, по всей видимости, ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , адсорбированные вблизи входа в натриевый канал.

Многие соединения, действующие на нервную систему, влияют именно на работу ионных каналов. Так, например, молекулы местных анестетиков, проникая в область натриевого канала путем диффузии через водную фазу или липидный слой, связываются с рецепторной группой, расположенной в глубине внутреннего устья, и перекрывают просвет канала. Нервное волокно, в котором блокированы натриевые каналы, естественно, теряет возбудимость. Изучение молекулярной структуры ионных каналов в возбудимых мембранах имеет большое значение для целенаправленного создания новых нейротропных препаратов.

### 8.9. РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ ПО НЕРВНОМУ ВОЛОКНУ

Качественная картина распространения потенциала действия по нерву хорошо известна из курса физиологии (рис. 64). Возбуждение нерва в каком-то участке ( $x = 0$  на рис. 64) приводит к деполяризации нервной мембраны: внутриклеточный потенциал увеличивается по сравнению с потенциалом покоя на некоторую величину  $V$  (при  $x = 0$  примем  $V = V_0$ ). Под действием разности потенциалов между участком в области возбуждения и соседним невозбужденным участком (с координатой  $x$ ) в аксоплазме начинает протекать ток  $i_a$ . Это в свою очередь приводит к снижению потенциала на мембране на величину  $V$ , которая зависит от  $x$ . Если деполяризация  $V$  в данной точке  $x$  окажется значительной ( $V > V_c$ , порога возбуждения), произойдет возбуждение мембраны в этом месте и т. д.

Процесс возбуждения (а именно возникновение ионных токов через мембрану) математически описывается, как уже говорилось, уравнениями Ходжкина и Хаксли. Распространение потенциала по нервному волокну описывается так называемым телеграфным уравнением, вывод которого мы сейчас рассмотрим. Предварительно заметим, что в эксперименте изменение потенциала  $V$  во времени и по ходу нервного волокна можно изучать, не вызвав возбуждения волокна, если подавать на мембрану в точке  $x = 0$  либо подпороговый, т. е. небольшой по величине

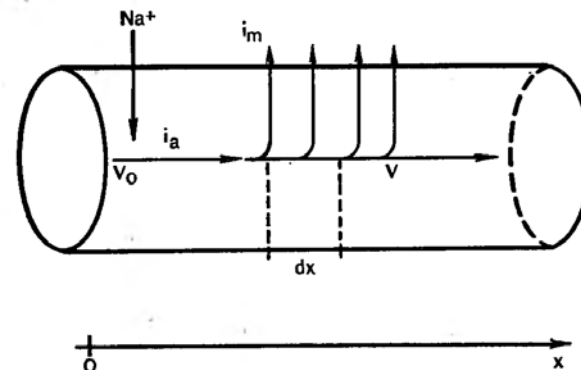


Рис. 64. Схема к выводу телеграфного (кабельного) уравнения распространения потенциала по нервному волокну (объяснение в тексте).

деполярирующий потенциал  $V_0$  ( $0 < V_0 < V_t$ ), либо отрицательный, гиперполярирующий потенциал ( $V < 0$ ), а затем с помощью микроэлектродов измерять изменение во времени потенциала  $V$  (это будет так называемый *электротонический потенциал*) в какой-то точке  $x$ . Очевидно, что  $V$  будет функцией как расстояния  $x$  от места подачи потенциала  $V_0$ , так и времени  $t$  с момента включения этого потенциала. Требуется найти теоретическое уравнение, описывающее зависимость  $V(x, t)$ .

Сначала рассмотрим зависимость потенциала на мембране от времени на участке нерва, расположенном на расстоянии  $x$  от начала отсчета и имеющего протяженность  $dx$  (см. рис. 64). Введем обозначения:  $\rho_m$  (Ом · м) — удельное сопротивление вещества мембраны;  $\rho_a$  (Ом · м) — удельное сопротивление аксоплазмы,  $i_a$  (А) — ток внутри аксона вдоль оси  $x$ ;  $j_m$  (А · м<sup>-2</sup>) — плотность тока через мембрану,  $j$  (А · м<sup>-2</sup>) — плотность тока по аксоплазме;  $C_m$  (Ф · м<sup>-2</sup>) — емкость единицы площади мембраны. Будем считать, что сопротивление внешней среды мало по сравнению с сопротивлением аксоплазмы и мембран.

Площадь мембраны участка нерва длиной  $dx$  равна  $dS = 2\pi r dx$ , где  $r$  — радиус нервного волокна. Сопротивление участка мембраны постоянному току равно  $\rho_m l / dS$ , где  $l$  — толщина мембраны (можно считать  $l \ll r$ ). Плотность мембранного тока  $j_1$  в стационарном режиме (т. е. при постоянстве мембранного потенциала) связана с сопротивлением участка и потенциалом  $V$  законом Ома:

$$j_1 dS \cdot \rho_m l / dS = V; \quad j_1 = V / \rho_m l. \quad (8.40)$$

Однако наряду с активным (омическим) сопротивлением мембрана площадью  $dS$  обладает емкостью  $C_m dS$ . Как известно из физики, при зарядке емкости  $C$  сила тока  $i$  связана со скоростью изменения потенциала  $dV/dt$  уравнением:  $i = C dV/dt$ . Плотность емкостного тока через мембрану равна:

$$j_2 = C_m \partial V / \partial t, \quad (8.41)$$

$\partial V / \partial x$  — производная потенциала по времени. Поскольку  $V$  зависит также и от  $x$ , то  $\partial V / \partial x$  берется при некотором постоянном  $x$  и называется частной производной  $V$  по  $t$ . Общая плотность тока через мембрану равна сумме  $j_1 + j_2$

$$j_m = C_m \frac{\partial V}{\partial t} + \frac{V}{\rho_m l}. \quad (8.42)$$

Обратившись к рис. 64, можно видеть, что сила тока в аксоплазме убывает с ростом  $x$ , так как часть тока, ответвляясь, проходит через мембрану. Поскольку движущиеся электрические заряды не могут исчезнуть или появиться из ничего, убыль силы тока —  $d_x i_a$  (нижний индекс  $x$  обозначает частный дифференциал) на участке аксоплазмы протяженностью  $dx$  равна силе тока, выходящего через мембрану на этом участке  $j_m dS$ . Перепишем это равенство, помня, что  $dS = 2\pi r dx$ :

$$j_m 2\pi r = - \frac{d_x i_a}{dx}, \quad \text{или} \quad j_m = - \frac{1}{2\pi r} \frac{\partial i_a}{\partial x}. \quad (8.43)$$

Сила тока в аксоплазме  $i_a$ , сопротивление аксоплазмы  $dR_a$  на участке  $dx$  и падение напряжения на этом участке —  $d_x V$  связаны законом Ома:

$$-d_x V = i_a dR_a. \quad (8.44)$$

Выразив  $dR_a$  через удельное сопротивление аксоплазмы  $\rho_a$ , длину  $dx$  и площадь проводника  $\pi r^2$ , получим выражение для  $i_a$

$$i_a = - \frac{\pi r^2}{\rho_a} \cdot \frac{d_x V}{dx}, \quad \text{или} \quad i_a = - \frac{\pi r^2}{\rho_a} \frac{\partial V}{\partial x}. \quad (8.45)$$

Величина  $\partial V / \partial x$  называется частной производной  $V$  по  $x$ ; она характеризует зависимость потенциала от координаты в данный момент времени. Избавимся от неизвестной нам величины  $i_a$ , продифференцировав уравнение (8.45) по  $x$  и подставив в полученное выражение значение  $\partial i_a / \partial x$  из уравнения (8.43). Получаем:

$$j_m = \frac{r}{2\rho_a} \cdot \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} \quad (8.46)$$

Теперь подставим в (8.46) выражение  $j_m$  из уравнения (8.42) и получим окончательное выражение (так называемое *телеграфное уравнение*):

$$\frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = \frac{2\rho_a}{r} \left( C_m \frac{\partial V}{\partial t} + \frac{V}{\rho_m l} \right). \quad (8.47)$$

Из этого уравнения видно, что потенциал  $V$  в точке  $x$  зависит от времени  $t$  и от координаты  $x$ . Телеграфное уравнение позволяет рассчитать, в частности, как изменяется потенциал по ходу волокна после установления стационарного режима, т. е. при  $t \rightarrow \infty$  и  $dV/dt = 0$  в каждой точке  $x$ . Решение уравнения (8.47) в этих условиях дает выражение:

$$V(x) = V_0 e^{-\lambda x}. \quad (8.48)$$

Ясно, что  $V = V_0$  при  $x = 0$ . Величина  $\lambda$  называется *константой* длины нервного волокна и равна:

$$\lambda = \sqrt{rl\rho_m/2\rho_a}. \quad (8.49)$$

Скорость распространения потенциала действия по нервному волокну при прочих равных условиях будет зависеть от того, как быстро потенциал, равный  $V_0$  в точке  $x = 0$ , будет снижаться по мере удаления от этой точки (т. е. с ростом  $x$ ). Мерой «иррадиации потенциала» как раз и может служить величина  $\lambda$ . Заметим, что при  $x = \lambda$   $V = V_0/e$ . Иначе говоря,  $\lambda$  равна расстоянию, на котором потенциал  $V$  уменьшается в  $e$  (2,718) раз по сравнению с  $V_0$ . Из уравнения (8.49) видно, что  $\lambda$  увеличивается с увеличением размеров аксона  $r$ , толщины мембраны  $l$  и удельного сопротивления вещества мембраны  $\rho_m$ , но уменьшается с ростом  $\rho_a$ .

Живые существа жизненно заинтересованы в высокой скорости проведения нервного импульса по нерву, а значит, в высоких величинах  $\lambda$ . Повлиять на  $\rho_a$  трудно, так как оно зависит от электролитного состава протоплазмы, который примерно одинаков у всех видов животных. Головоногие моллюски пошли по пути увеличения радиуса нервного волокна  $r$ , создав гигантские аксоны. Позвоночные «изобрели» миелиновое волокно. Миелин содержит много холестерина и мало белка; его удельное сопротивление выше удельного сопротивления других биологических мембран. Кроме того, толщина миелиновой оболочки  $l$  в сотни раз превышает толщину обычной клеточной мембраны. Это обеспечивает высокие значения  $\lambda$  в миелиновых нервных волокнах и скачкообразное (скачкообразное) распространение потенциала по ним от одного перехвата Ранвье к другому. Нарушение миелиновых оболочек при «миелиновых болезнях» приводит к нарушениям распространения нервного возбуждения по нервам и тяжелым расстройствам в функционировании нервной системы животных и человека.

## Глава 9

### ВНЕШНИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ПОЛЯ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ

При функционировании тканей и органов, как и отдельных клеток, сопровождающемся электрической ак-

тивностью, в организме создается электрическое поле. Поэтому два электрода, приложенные к разным участкам тела, регистрируют разность потенциалов. Зависимость от времени разности потенциалов, возникающей при функционировании данного органа или ткани, называется *электрограммой*. Названия электрограмм указывают на органы (ткани), функционирование которых приводит к появлению регистрируемой разности потенциалов: электрокардиограмма (ЭКГ), электроретинограмма (ЭРГ), электроэнцефалограмма (ЭЭГ), электромиограмма (ЭМГ) и т. д. Электрограммы получают чаще всего, измеряя потенциалы на поверхности тела и органов.

Можно сформулировать две основные задачи изучения электрограмм: первая (*прямая*) заключается в выяснении механизма возникновения электрограмм, вторая (*обратная*, или *диагностическая*) — в выявлении состояния органа по характеру его электрограмм.

#### 9.1. БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ В ОРГАНИЗМЕ

При изучении механизма возникновения электрограмм ткани и органы как источники электрического поля представляют в виде *эквивалентного электрического генератора*. Под ним подразумевается модельная физическая система, которая должна удовлетворять двум требованиям: расчетные потенциалы электрического поля эквивалентного генератора в разных точках организма должны быть равны реальным, регистрируемым потенциалам; при варьировании параметров эквивалентного генератора должны происходить такие же изменения его поля, как и в реальных электрограммах при соответствующем сдвиге функционирования органа.

Почти во всех существующих моделях электрическую активность органов и тканей сводят к действию определенной совокупности *токовых электрических генераторов*, находящихся в объемной электропроводящей среде. Эквивалентная схема токового генератора в проводящей среде представлена на рис. 65. Токовый генератор имеет высокое внутреннее сопротивление  $R$ , во много раз превосходящее сопротивление внешней нагрузки (среды)  $R_0$ . По закону Ома для полной электрической цепи  $I = I_0 = E/(R + R_0)$ , где  $I$  и  $I_0$  — сила тока в генераторе и суммарного тока в среде;  $E$  — э. д. с. генератора. Поскольку

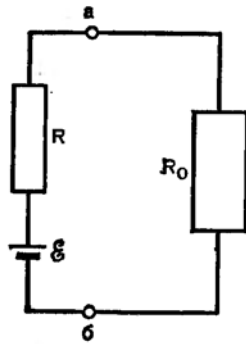


Рис. 65. Эквивалентная электрическая схема токового электрического генератора и внешней проводящей среды. а, б — полюса генератора.

$R \gg R_0$ ,  $I = I_0 \approx E/R$ . Согласно этому соотношению, сила тока в генераторе и суммарного тока во внешней среде (нагрузка) не зависит от сопротивления внешней среды. Для токовых генераторов выполняется правило суперпозиции электрических полей: потенциал поля совокуп-

ности генераторов равен алгебраической сумме потенциалов полей, создаваемых отдельными генераторами.

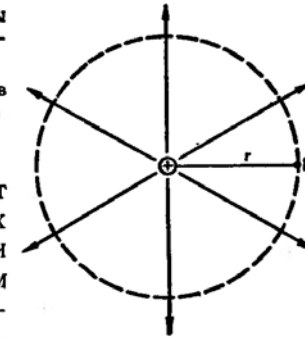
Пространственная структура электрического поля, создаваемого во внешней среде генератором, определяется положением его полюсов. Для расчета потенциалов этого поля генератор представляют в виде *токового электрического диполя* — системы из положительного полюса (источка электрического тока) и отрицательного полюса (стока), расположенных на небольшом расстоянии друг от друга.

Важнейший параметр токового электрического диполя — *электрический дипольный момент*  $\vec{D}$ . Это векторная величина, определяемая соотношением  $\vec{D} = \vec{l}I$ , где  $I$  — ток в диполе (равный суммарному току во внешней среде),  $\vec{l}$  — вектор расстояния между полюсами. Направление вектора дипольного момента принимается от отрицательного полюса к положительному (совпадает с направлением тока внутри диполя).

Диполи в зависимости от их размера разделяют на два типа: *точечные* и *конечные*. Точечным называют диполь, который занимает бесконечно малый объем пространства ( $\vec{l} \rightarrow 0$ ). Теоретически рассматривают также электрическое поле отдельных полюсов диполя, которые в таком случае называются *униполями*.

В дальнейшем мы будем принимать, что окружающая токовые диполи среда однородна в электрическом отношении, ее удельная электропроводность по всем направлениям одна и та же. В организме окружающая токопроводящая среда имеет конечную протяженность, так как ограничена по поверхности тела изолятором (воздухом). Это

Рис. 66. Схема к выводу формулы потенциала электрического поля, создаваемого униполем. Стрелки показывают направление тока в среде.



ограничение среды оказывает влияние на структуру внешних электрических полей тканей и органов. В ряде случаев механизм генеза этих полей изучают при допущении, что окружающая генератор среда бесконечна.

## 9.2. ПОТЕНЦИАЛ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ ТОКОВОГО УНИПОЛЯ В ОДНОРОДНОЙ НЕОГРАНИЧЕННОЙ СРЕДЕ

Для любой точки  $B$ , находящейся на произвольном расстоянии  $r$  от положительного униполя (рис. 66), по закону Ома в дифференциальной форме

$$d\varphi_y = -J\rho dr, \quad (9.1)$$

где  $\varphi_y$  — потенциал;  $J$  — плотность тока;  $\rho$  — удельное сопротивление среды. Через сферу с радиусом  $r$  и площадью поверхности  $4\pi r^2$  протекает суммарный ток, равный выходящему из униполя току  $I$ . Поэтому  $J = I/4\pi r^2$ . Чтобы найти выражение для  $\varphi_y$ , проинтегрируем уравнение (9.1) в пределах расстояния от  $r$  до  $\infty$  и потенциала от  $\varphi_y$  до нуля (принимая  $\varphi_y = 0$  при  $r \rightarrow \infty$ ). В результате получаем

$$\varphi_y = \rho I / 4\pi r. \quad (9.2)$$

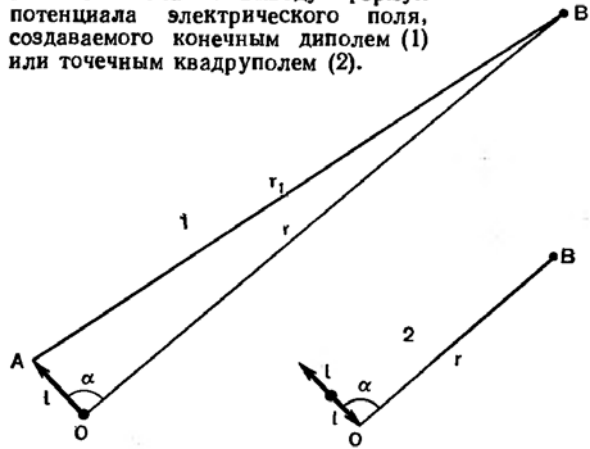
Потенциал поля отрицательного униполя равен  $-\varphi_y$ .

## 9.3. ПОТЕНЦИАЛ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ, СОЗДАВАЕМОГО КОНЕЧНЫМ ДИПОЛЕМ

Поместим конечный диполь отрицательным полюсом в начало координат 0 (рис. 67). Потенциал  $\varphi$  в точке регистрации  $B$  равен сумме потенциалов униполей:  $\varphi = \rho I / 4\pi r_1 - \rho I / 4\pi r$ , где  $r_1$  и  $r$  — расстояние между положительным полюсом  $A$  и точкой  $B$  и между отрицательным полюсом и точкой  $B$ . Обычно величина  $l$  диполя и, следовательно-



Рис. 67. Схема к выводу формул потенциала электрического поля, создаваемого конечным диполем (1) или точечным квадруполем (2).



но,  $r_1$  не известны. Поэтому  $\varphi$  удобнее представлять в виде зависимости от  $r$ , дипольного момента и угла ( $\alpha$ ) между направлением регистрации потенциала и направлением вектора дипольного момента. По теореме косинусов из рис. 67 находим:

$$r_1 = \sqrt{r^2 + l^2 - 2rl \cos \alpha}$$

и тогда имеем

$$\varphi = \rho l / 4\pi r \sqrt{1 + H} - \rho l / 4\pi r, \quad (9.3)$$

где введено обозначение  $H = (l^2 - 2rl \cos \alpha) / r^2$ .

Известно, что при условии  $r > l$ , а значит  $-1 < H < 1$ , функцию  $1/\sqrt{1+H}$  можно разложить на многочлен по степеням  $H$ , представляющий собой бесконечную сумму убывающих членов. В результате этого получаем:

$$\varphi = \frac{\rho l \cos \alpha}{4\pi r^2} + \frac{\rho l^2 (3 \cos^2 \alpha - 1)}{8\pi r^3} + G, \quad (9.4)$$

где  $G$  обозначает сумму членов, которые пропорциональны  $l^3/r^4$ ,  $l^4/r^5$  и т. д.

Таким образом, потенциал конечного диполя описывается бесконечной суммой убывающих членов (убывающим рядом), зависящих от расстояния как  $1/r^n$ , где  $n = 2, 3, 4, \dots$  Такое представление потенциала именуется *мультипольным разложением*.

#### 9.4. ДИПОЛЬНЫЙ ЭКВИВАЛЕНТНЫЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКИЙ ГЕНЕРАТОР СЕРДЦА

В возбужденном миокарде всегда имеются много диполей (назовем их элементарными). Потенциал поля каждого диполя в неограниченной среде подчиняется уравнению (9.4). При изучении потенциалов на значительном удалении от сердца, когда выполняется условие  $r \gg l$ , первый член правой части уравнения (9.4) намного превосходит остальные. Поэтому в первом приближении вторым и последующими членами можно пренебречь. Это заведомо справедливо в случае точечных диполей, у которых  $l \rightarrow 0$ . Первый член в правой части уравнения (9.4) именуют *дипольным потенциалом* (потенциалом точечного диполя). Отметим, что этот потенциал любого  $j$ -того элементарного диполя пропорционален  $D_j \cos \alpha_j$  ( $D_j$  — модуль вектора  $\vec{D}_j$ ), т. е. проекции вектора дипольного момента на прямую, соединяющую начало диполя и точку измерения потенциала.

Потенциал ( $\varphi_0$ ) электрического поля сердца складывается из дипольных потенциалов элементарных диполей. Поскольку в каждый момент кардиоцикла возбуждается сравнительно небольшой участок миокарда, расстояния от всех диполей до точки измерения потенциала примерно равны друг другу, и  $\varphi_0$  приближенно описывается выражением:

$$\varphi_0 = \frac{\rho}{4\pi r^2} \sum_{j=1}^m D_j \cos \alpha_j, \quad (9.5)$$

в котором  $r$  — одинаковое для всех диполей расстояние до точки измерения потенциала,  $m$  — количество диполей. Сумму проекций в этом выражении можно рассматривать как проекцию вектора дипольного момента ( $\vec{D}_0$ ) одного токового диполя, у которого  $\vec{D}_0 = \sum_{j=1}^m \vec{D}_j$ . Этот диполь называют *эквивалентным диполем сердца*. Таким образом, потенциал внешнего электрического поля сердца можно представить в виде дипольного потенциала одного эквивалентного диполя:

$$\varphi_0 = \rho D_0 \cos \alpha / 4\pi r^2, \quad (9.6)$$

где  $\alpha$  — угол между  $\vec{D}_0$  и направлением регистрации потенциала;  $D_0$  — модуль вектора  $\vec{D}_0$ .

Теория осложняется тем, что сердце функционирует в среде, ограниченной поверхностью организма. Учесть влияние этой границы ввиду ее геометрической сложности трудно. Часто поверхность организма рассматривают как поверхность простого геометрического тела, например, шара, в центре которого располагают отрицательный полюс эквивалентного диполя сердца. Специальные расчеты показывают, что тогда

$$\varphi_0 = \frac{\rho D_0 \cos \alpha}{4\pi r^2} + \frac{\rho r D_0 \cos \alpha}{2\pi r_c^3}, \quad (9.7)$$

где  $r_c$  — радиус шара.

При измерении потенциала на поверхности такого шара когда  $r = r_c$ ,

$$\varphi_0 = \frac{3\rho D_0 \cos \alpha}{4\pi r_c^2}. \quad (9.8)$$

Из уравнений (9.6) и (9.7) видно, что ограничение среды сферической поверхностью приводит к увеличению дипольного потенциала, но характер его зависимости от  $r$  и  $\alpha$  сохраняется прежним. Однако если точка регистрации находится на большом расстоянии от поверхности ( $r_c \gg r$ ), то в уравнении (9.7) вторым членом в правой части можно пренебречь и ограничивающая поверхность уже мало сказывается на величине дипольного потенциала.

Модель, в которой электрическая активность миокарда заменяется действием одного эквивалентного точечного диполя и потенциалы внешнего поля описываются выражениями (9.6) или (9.7)—(9.8), называют *дипольным эквивалентным электрическим генератором сердца*.

Рассчитать теоретически абсолютное значение  $\varphi_0$  не представляется возможным, поскольку в данной модели конкретная природа диполя, а следовательно, и величина дипольного момента  $D_0$  неизвестны. Справедливость уравнения (9.6) подтверждается тем, что измеряемые на поверхности тела потенциалы в фиксированный момент кардицикла оказываются приблизительно пропорциональными  $\cos \alpha$  и обратно пропорциональными  $r^2$ .

### 9.5. ВЕКТОРНАЯ ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИЯ

Векторная электрокардиография заключается в измерении вектора дипольного момента эквивалентного диполя сердца на протяжении кардицикла. Этот вектор называ-

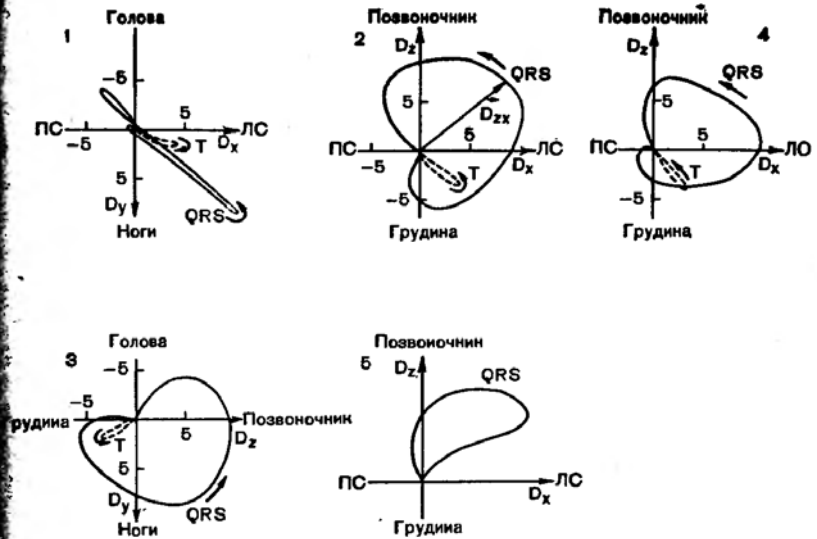


Рис. 68. Плоские ВЭКГ здорового человека (1—4) [Титомир Л. И., 1980] и при переднем инфаркте миокарда (5).

1, 3 — проекции на фронтальную и левую сагиттальную плоскости; 2, 4, 5 — проекции на горизонтальную плоскость; 1—3 — один и тот же обследуемый; 4 — другой обследуемый;  $D_x$ ,  $D_y$ ,  $D_z$  — проекции вектора сердца (BC) на координатные оси в единицах  $10^{-5}$  А·м (1—4) или в относительных единицах (5);  $D_{zx}$  — проекция BC на плоскость zx. ПС и ЛС — правая и левая сторона обследуемого. Кривые стрелки показывают направление перемещения конца проекции BC в периоды QRS-комплекса или Т-волны.

ется *электрическим вектором сердца* или просто *вектором сердца*. Его измерение основано на том, что электрическое поле на поверхности тела, создаваемое сердцем, определяется уравнениями типа (9.6)—(9.8). Измеряя потенциалы  $\varphi_0$  на поверхности тела и определяя соответствующим образом  $r$  и  $\alpha$ , легко определить электрический вектор  $\vec{D}_0$  сердца, хотя действительные значения  $I$  и  $\vec{l}$  этого вектора остаются неизвестными. По данным таких измерений максимальное значение модуля вектора сердца составляет около  $2 \cdot 10^{-5}$  А·м.

В векторной электрокардиографии регистрируют два вида кривых, характеризующих вектор дипольного момента эквивалентного диполя сердца: (1) *пространственная векторная электрокардиограмма (ВЭКГ)*, представляющая собой траекторию конца вектора  $\vec{D}_0$  в трехмерном про-

странстве в течение кардиоцикла; (2) *плоские векторные электрокардиограммы* (петли) — кривые, описываемые в течение кардиоцикла концом проекции вектора дипольного момента эквивалентного диполя на какую-либо плоскость (рис. 68). На практике имеют дело в основном с плоскими ВЭКГ.

Для исследования ВЭКГ человека разработано несколько систем отведений потенциалов, отличающихся по числу и расположению отводящих электродов на поверхности тела, выбору плоскостей для получения плоских ВЭКГ. Плоские ВЭКГ чаще всего анализируют в декартовой системе координат с началом, расположенным в геометрическом центре желудочков сердца или в центре среднего горизонтального (трансверсального) сечения грудной клетки. Направление осей относительно тела испытуемого:  $x$  — справа налево;  $y$  — сверху вниз;  $z$  — спереди назад. Плоские ВЭКГ получают в проекциях на горизонтальную, фронтальную и сагиттальные плоскости. Пример плоских ВЭКГ здорового человека приведен на рис. 68 (петли  $P$  волны не изображены). Хотя вид петель ВЭКГ несколько меняется от индивидуума к индивидууму, их общая форма при этом сохраняется (ср. кривые 2 и 4). При многих болезнях сердца форма плоских ВЭКГ резко трансформируется, и это используется в диагностических целях. Например, в QRS-петле ВЭКГ в проекции на горизонтальную плоскость отсутствует нижняя часть при инфаркте переднего участка межжелудочковой перегородки и смежной передней стенки левого желудочка (рис. 68, график 5).

#### 9.6. МУЛЬТИПОЛЬНЫЙ ЭКВИВАЛЕНТНЫЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКИЙ ГЕНЕРАТОР СЕРДЦА

При исследовании зависимости потенциалов от  $r$  на небольшом удалении от сердца обнаруживается, что регистрируемые величины при небольших  $\alpha$  уменьшаются с ростом  $r$  значительно резче, чем это должно быть по уравнению (9.6). Это объясняется тем, что в теории для небольших  $\alpha$  и  $r$  потенциал элементарных конечных диполей сердца занижен в процессе упрощения выражения (9.4). Для более точного описания внешнего электрического поля сердца необходимо учитывать другие члены мультипольного разложения (9.4). Второй член этого разложения называется *квадрупольным потенциалом*, следующий член, пропорциональный  $1/r^4$ , — *октупольным потенциалом*

и т. д. Эти члены существенны только при малых значениях  $r$ , поскольку они гораздо более резко падают с увеличением расстояния, чем дипольный потенциал. Квадрупольный и последующие члены мультипольного разложения потенциала имеют более сложную зависимость от  $\alpha$  по сравнению с первым дипольным членом [см. уравнение (9.4)].

Квадрупольный, октупольный и другие члены рассматриваемого мультипольного разложения потенциала можно получить в виде потенциала внешнего электрического поля более сложных, чем диполь, электрических генераторов: точечных квадруполя, октуполя и т. д.

Наиболее простой из таких мультиполей — квадруполь, изображенный на рис. 67. Если провести расчет потенциала этого квадруполя в неограниченной среде в точке  $B$ , как это описано выше в случае диполя, можно показать, что дипольные потенциалы двух диполей в составе квадруполя в сумме дают нуль. Потенциал, создаваемый квадруполем, оказывается равным удвоенному второму квадрупольному члену в правой части выражения (9.4). Квадруполи иной структуры отличаются по зависимости от  $\alpha$ .

Физико-математическая модель, описывающая потенциал внешнего электрического поля сердца мультипольным разложением типа выражения (9.4), в котором каждый член соответствует потенциалу точечного мультиполя, называется *мультипольным эквивалентным электрическим генератором сердца*. На практике оказывается достаточным принимать в расчет только дипольный и квадрупольный члены.

#### 9.7. МНОГОДИПОЛЬНЫЕ ЭКВИВАЛЕНТНЫЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ГЕНЕРАТОРЫ СЕРДЦА И ГЕНЕЗ ЭКГ

В последние годы разработаны модели электрической активности сердца с целью рассчитать ЭКГ человека с учетом морфологических, цитологических и физиологических параметров миокарда [Баум О. В., Дубровин Э. И., 1973; Миллер, Гезеловитц, 1978]. Такие модели описывают электрические свойства сердца совокупностью большого числа токовых диполей и поэтому называются *многодипольными эквивалентными электрическими генераторами*. При исследовании этих моделей исходят из того, что в конечном счете источниками тока в миокарде являются мембраны возбудимых клеток сердечной мышцы.

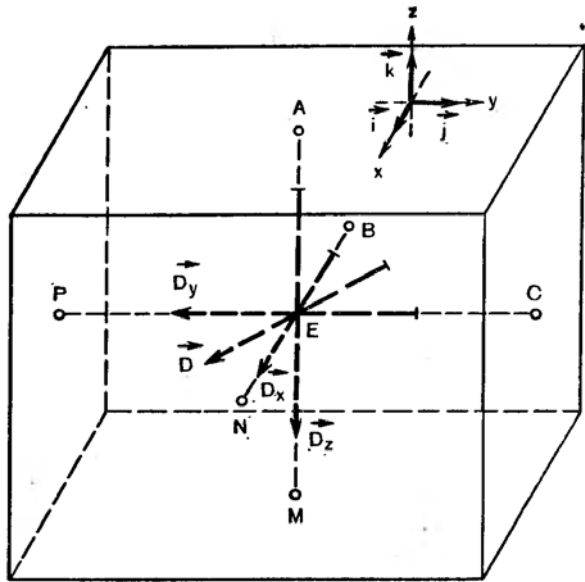


Рис. 69. Схема к выводу формулы для расчета дипольных моментов элементарных объемов миокарда.

Модель Миллера и Гезеловитца, на которой они проанализировали генез желудочковых компонентов ЭКГ, основывается на двух главных положениях.

1. В отношении генеза ЭКГ сердце представляет собой систему токовых электрических диполей; окружающая сердце проводящая среда считается однородной.

2. Миокард представляет собой *электрический синцитий*, в котором ток может протекать из клетки в клетку через клеточные контакты с высокой проводимостью и тем самым создавать электрические диполи.

Дипольный момент  $\vec{D}$  токового диполя, возникающего в данном участке миокарда, можно найти приближенно из характеристик электрического поля внутри клеток синцития. В делим в миокарде объем в виде прямоугольного параллелепипеда, ребра которого параллельны координатным осям расстояния  $x, y, z$  (рис. 69). Положительные направления осей системы координат, определяющих пространственное положение  $\vec{D}$ , выберем одинаковыми с

положительными направлениями осей  $x, y, z$ . Центр вектора  $\vec{D}$  находится в геометрическом центре  $E$  выбранного объема. Любой вектор в трехмерном пространстве представляет собой сумму своих геометрических проекций ( $\vec{D}_x, \vec{D}_y, \vec{D}_z$ ) на координатные оси (в данном случае на оси, проходящие через центры противоположных граней). Эту сумму удобно записать в виде

$$\vec{D} = D_x \vec{i} + D_y \vec{j} + D_z \vec{k},$$

где  $D_x$  и др. — алгебраические проекции;  $\vec{i}, \vec{j}, \vec{k}$  — единичные (основные) векторы расстояния, показывающие положительное направление и единицу масштаба осей  $x, y, z$ .

Вектор данной проекции можно считать вектором дипольного момента токового диполя, расположенного параллельно соответствующей оси расстояния. Полюса такого диполя — грани объема, перпендикулярные оси расстояния. Следовательно,

$$\vec{D} = I_x l_x \vec{i} + I_y l_y \vec{j} + I_z l_z \vec{k}, \quad (9.9)$$

где  $I_x, I_y, I_z$  — сила токов, протекающих внутри объема параллельно осям  $x, y, z$ ;  $l_x, l_y$  и  $l_z$  — расстояния между полюсами диполей (между центрами противоположных граней): от  $B$  до  $N$ , от  $P$  до  $C$  и от  $M$  до  $A$  (см. рис. 69).

$I_x, I_y, I_z$  могут быть положительными или отрицательными в соответствии со знаком  $D_x, D_y, D_z$ . По закону Ома для токов имеем выражения:

$$I_x = - \frac{s_x (\varphi_N - \varphi_B)}{\rho_c l_x}; \quad I_y = - \frac{s_y (\varphi_C - \varphi_P)}{\rho_c l_y};$$

$$I_z = - \frac{s_z (\varphi_A - \varphi_M)}{\rho_c l_z}, \quad (9.10)$$

в которых  $\varphi_N, \varphi_B$  и др. — потенциалы внутреннего поля на поверхностях граней с центрами  $N, B$  и т. д.;  $\rho_c$  — удельное электрическое сопротивление среды внутри объема (внутри клеток синцития);  $s_x, s_y$  и  $s_z$  — площади граней, перпендикулярных осям  $x, y, z$ . Отметим, что  $s_x, s_y, s_z$  и, следовательно,  $l_x, l_y, l_z$  должны быть достаточно небольшими, чтобы потенциал в пределах данной грани можно было считать постоянным.

При подстановке выражений (9.10) в уравнение (9.9) окончательно получаем

$$\vec{D} = -\frac{V_0}{\rho_0} \left( \frac{\varphi_N - \varphi_B}{l_x} \vec{i} + \frac{\varphi_C - \varphi_P}{l_y} \vec{j} + \frac{\varphi_A - \varphi_M}{l_z} \vec{k} \right), \quad (9.11)$$

где  $V_0 = s_x l_x = s_y l_y = s_z l_z$  — величина объема.

Процедура моделирования включала следующие этапы. Вначале желудочки равномерно разбивали на элементарные объемы. Затем дипольный момент каждого элементарного объема рассчитывали по уравнению (9.11). Этот расчет производился для последовательных моментов времени через интервалы 10 мс, исходя из экспериментальных данных о форме потенциала действия мышечных клеток желудочков и о распространении возбуждения по миокарду. В результате электрическая активность желудочков была представлена в виде совокупности около 4000 токовых диполей с моментами, изменяющимися во времени в ходе кардиоцикла.

Поскольку расчет внешнего суммарного поля такого числа диполей трудоемок и сложен, элементарные объемы при дальнейших расчетах объединяли в 23 более обширных блока. Для каждого блока определяли дипольный момент как сумму моментов составляющих элементарных объемов; такой суммарный дипольный момент помещали в центр блока.

Наконец, для указанных 23 диполей из анатомических данных находили расстояния до точек отведения ЭКГ на поверхности тела. Рассматривалась поверхность тела от шеи до пояса. Эту поверхность представляли в виде 1426 треугольных элементарных участков непроводящей среды, чтобы учесть влияние ограничения на дипольные потенциалы. Разность потенциалов между данными участками поверхности тела рассчитывали как результат сложения внешних полей диполей с помощью цифровой вычислительной машины.

Анализировались эквипотенциальные линии (линии с одинаковым потенциалом) на поверхности тела в разные моменты кардиоцикла и электрограммы желудочков для ряда отведений; точки регистрации потенциалов указаны на рис. 70. Точки *R*, *L* и *F*, эквивалентные точкам отведения по Эйнтховену (правая рука, левая рука и левая нога) в практической электрокардиографии, располагались на торсе. Расположение других точек отведения было обычным, как принято в электрокардиографии. Были рассчи-

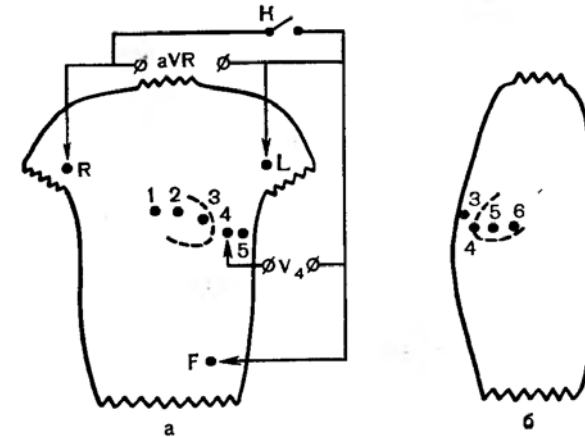


Рис. 70. Схема расположения точек на поверхности тела человека, для которых рассчитывались потенциалы внешнего поля желудочков в модели многодипольного генератора сердца.

Пунктирная линия — часть контура сердца. Ключ *K* замыкается при измерении ЭКГ в отведении  $V_4$ ; а, б — вид спереди и сбоку (соответственно).

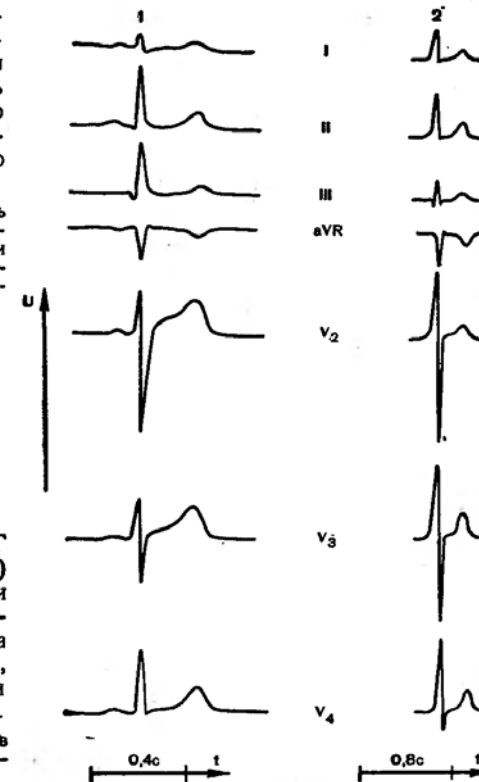


Рис. 71. Пример ЭКГ здорового человека (1) [Шакин В. В., 1981] и расчетные электрограммы желудочков сердца человека (2) [Миллер, Гезеловитц, 1978] при нескольких отведениях. *U* — разность потенциалов в относительных единицах; *t* — время.

таны электрограммы желудочков для 12 стандартных отведений: отведения I, II и III — разность потенциалов соответственно между точками L и R, R и F, L и F; отведения aVR, aVL, aVF — разность потенциалов соответственно между точкой R и закороченными точками LF, между L и RF, F и LR, как показано на рис. 75 для отведения aVR; отведения  $V_1 - V_6$  — разность потенциалов между точками 1—6 и закороченными точками RLF, как это изображено на рис. 70 для отведения  $V_4$ . Оказалось, что рассчитанные электрограммы желудочков (рис. 71), а также эквивалентные линии на поверхности тела близки к тем же параметрам внесердечного поля, непосредственно измеряемого на поверхности тела. Таким образом, в теории многодипольного эквивалентного электрического генератора сердца удается рассчитывать собственно электрокардиограммы и объяснить механизм их генеза на уровне электрической активности клеток миокарда.

На основе описанной модели были рассчитаны электрограммы желудочков, содержащих очаги ишемического поражения. Было показано, что известные из экспериментов электрокардиографические признаки инфаркта миокарда и других ишемических поражений хорошо воспроизводятся на модели. При этом выяснилось, что наблюдаемые при инфаркте желудочков изменения электрограмм могут происходить в результате снижения потенциала покоя мышечных клеток, увеличения времени деполяризации при генерации потенциалов действия, уменьшения амплитуды и длительности потенциалов действия и некоторых других сдвигов в электрической активности клеток.

### 9.8. ВНЕШНЕЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЕ ПОЛЕ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Большинство имеющихся экспериментальных данных говорит о том, что генез ЭЭГ определяется в основном электрической активностью коры больших полушарий головного мозга, а на уровне клеток — активностью ее пирамидных нейронов. У пирамидных нейронов выделяют два типа электрической активности. *Импульсный разряд* (потенциал действия) с длительностью около 1 мс и более медленное (*градуальное*) колебание мембранного потенциала — *тормозные и возбуждающие постсинаптические потенциалы* (ПСП). Тормозные ПСП пирамидных клеток генерируются в ос-

новном в теле нейрона, а возбуждающие ПСП — преимущественно в дендритах. Правда, на теле нейрона имеется определенное количество возбуждающих синапсов, и соответственно этому тело пирамидных нейронов (сочма) способно генерировать также и возбуждающие ПСП. Длительность ПСП пирамидных клеток по крайней мере на порядок больше продолжительности импульсного разряда.

Изменения мембранного потенциала обуславливают возникновение в пирамидных клетках двух токовых диполей, отличающихся по цитологической локализации (рис. 72). Один из них — *соматический диполь* с

дипольным моментом  $\vec{D}_c$ . Он формируется при изменении мембранного потенциала тела нейрона; ток в диполе и во внешней среде протекает между сомой и дендритным стволом. Вектор дипольного момента  $\vec{D}_c$  при импульсном разряде или генерации в теле нейрона возбуждающего ПСП направлен от сомы вдоль дендритного ствола, а тормозной ПСП создает сомати-

ческий диполь с дипольным моментом  $\vec{D}_d$ . Он формируется при генерации тормозного ПСП в дендритах. Вектор дипольного момента  $\vec{D}_d$  при импульсном разряде направлен от дендритного ствола к соме. Векторы  $\vec{D}_{си}$ ,  $\vec{D}_{ст}$ ,  $\vec{D}_d$ ,  $\vec{D}_{кп}$  — векторы диполей при генерации возбуждающего ПСП и диполей квадруполя, образующегося при генерации возбуждающего ПСП на дендритном стволе.

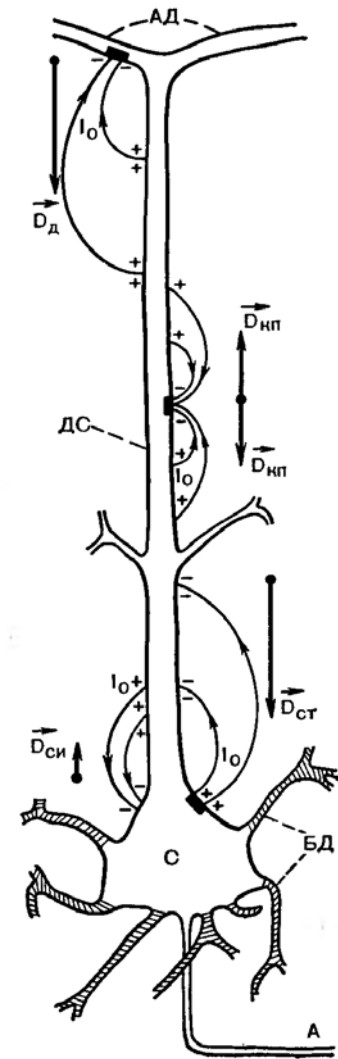


Рис. 72. Возникновение токовых диполей в пирамидном нейроненовой коры.

С, А, БД, ДС, АД — сома (тело), аксон, базальные дендриты, дендритный ствол и дендриты апикального ветвления (соответственно).

Черные прямоугольники показывают некоторые участки, в которых генерируются ПСП; знаки + и — обозначают полярность некоторых участков внешней поверхности клетки, между которыми во внешней среде протекает ток  $I_0$ .

$\vec{D}_{си}$ ,  $\vec{D}_{ст}$ ,  $\vec{D}_d$ ,  $\vec{D}_{кп}$  — векторы соматического диполя при импульсном разряде, соматического диполя при генерации тормозного ПСП, дендритного диполя при генерации возбуждающего ПСП и диполей квадруполя, образующегося при генерации возбуждающего ПСП на дендритном стволе.

новном в теле нейрона, а возбуждающие ПСП — преимущественно в дендритах. Правда, на теле нейрона имеется определенное количество возбуждающих синапсов, и соответственно этому тело пирамидных нейронов (сочма) способно генерировать также и возбуждающие ПСП. Длительность ПСП пирамидных клеток по крайней мере на порядок больше продолжительности импульсного разряда.

Изменения мембранного потенциала обуславливают возникновение в пирамидных клетках двух токовых диполей, отличающихся по цитологической локализации (рис. 72). Один из них — *соматический диполь* с

дипольным моментом  $\vec{D}_c$ . Он формируется при изменении мембранного потенциала тела нейрона; ток в диполе и во внешней среде протекает между сомой и дендритным стволом. Вектор дипольного момента  $\vec{D}_c$  при импульсном разряде или генерации в теле нейрона возбуждающего ПСП направлен от сомы вдоль дендритного ствола, а тормозной ПСП создает сомати-

ческий диполь с противоположным направлением дипольного момента. Другой диполь, называемый *дендритным*, возникает в результате генерации возбуждающих ПСП на ветвлении апикальных дендритов в первом, плексиморфном слое коры; ток в этом диполе течет между дендритным стволом и указанным ветвлением. Вектор дипольного момента  $\vec{D}_д$  дендритного диполя имеет направление в сторону сомы вдоль дендритного ствола.

Генерация возбуждающего ПСП в районе дендритного ствола без ветвления приводит к появлению квадрупольного поля, поскольку при этом от частично деполяризованного участка ток внутри клетки распространяется в двух противоположных направлениях, в результате чего формируются два диполя с противоположным направлением дипольных моментов  $\vec{D}_{кп}$  (см. рис. 72). Так как диполи малы по сравнению с расстояниями до точек отведения ЭЭГ, внешним полем квадрупольного генератора пирамидных клеток можно пренебречь (см. раздел 9.4).

Важное значение для выяснения механизма генеза ЭЭГ имеет вопрос о том, какой тип электрической активности (потенциал действия или ПСП) дает наибольший вклад в потенциал внешнего поля головного мозга. Ясно, что для генеза ЭЭГ наиболее существенна та элек-

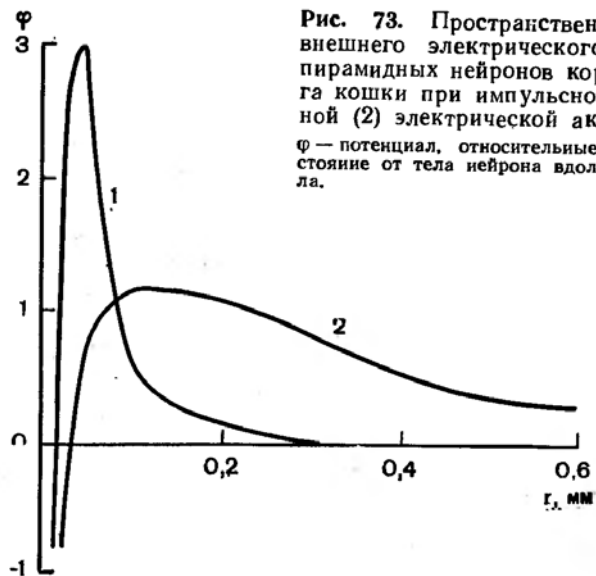


Рис. 73. Пространственная структура внешнего электрического поля больших пирамидных нейронов коры головного мозга кошки при импульсной (1) и градуальной (2) электрической активности.

$\phi$  — потенциал, относительные единицы;  $r$  — расстояние от тела нейрона вдоль дендритного ствола.

трическая активность, при которой возникает диполь с большим дипольным моментом. Величину этого дипольного момента можно оценить по протяженности внеклеточного поля, например по расстоянию, на котором потенциал падает до очень малых значений или же в определенное число раз. К. Ю. Богданов и В. Б. Головчинский рассчитали пространственное распределение внеклеточного электрического поля пирамидных нейронов коры при импульсной активности и при градуальном изменении мембранного потенциала сомы, обусловленном возбуждающим ПСП. Этот расчет проводился на основе кабельной теории (см. раздел 8.9) при условии, что величина потенциала действия на порядок превышает ПСП.

На рис. 73 изображена полученная пространственная структура электрического поля вдоль дендритного ствола и вокруг на расстоянии около 0,01 мм от продольной оси этого ствола. Оказалось, что внешнее поле пирамидного нейрона при импульсном разряде очень резко уменьшается вдоль дендритного ствола: уже на расстоянии около 0,3 мм потенциал падает практически до нуля. В противоположность этому внеклеточное поле ПСП характеризуется гораздо большей протяженностью (примерно на порядок), и, следовательно, при этой активности пирамидные клетки имеют гораздо более высокий дипольный момент. Это различие находит объяснение при рассмотрении пассивных электрических свойств дендритного ствола.

По отношению к потенциалу действия ввиду его кратковременности мембрана дендрита ведет себя как *емкость*, обладающая низким сопротивлением току высокой частоты. Поэтому ток, обусловленный импульсной активностью, циркулирует на небольшом расстоянии от тела клетки; емкость мембраны шунтирует отдаленные участки ствола. Действительно, по данным микроэлектродных исследований, внешнее электрическое поле пирамидных нейронов, генерируемое потенциалом действия, не обнаруживается уже на расстояниях выше 0,1 мм. Таким образом, ЭЭГ должна в основном создаваться «медленным» соматическим и дендритным диполями, возникающими при генерации тормозных и возбуждающих постсинаптических потенциалов.

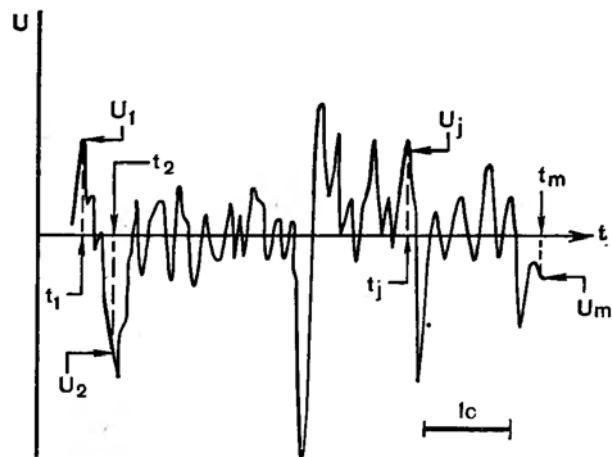


Рис. 74. Фрагмент фоновой ЭЭГ.  
 $U$  — разность потенциалов;  $t$  — время.

### 9.9. СТАНДАРТНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММЫ КАК КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА

При изучении внешнего электрического поля мозга регистрируют и интерпретируют переменный сигнал ЭЭГ, а постоянную составляющую, как правило, не принимают во внимание. Как видно на рис. 74, ЭЭГ фоновой активности мозга представляет собой весьма сложную зависимость разности потенциалов от времени и выглядит как совокупность случайных колебаний разности потенциалов. Для характеристики таких хаотических колебаний («шумов») используют параметры, известные из теории вероятности: *среднюю величину* и *стандартное отклонение*  $\sigma$  от средней величины. Чтобы найти  $\sigma$ , выделяют участок на ЭЭГ, который разбивают на небольшие равные интервалы времени, и в конце каждого интервала ( $t_1, t_j, t_m$  на рис. 74) определяют напряжение  $U(U_1, U_j, U_m$  на рис. 74). Стандартное отклонение рассчитывают по обычной формуле

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^m (U_j - \bar{U})^2}{m-1}} \quad (9.12)$$

в которой  $\bar{U}$  — среднеарифметическое значение разности потенциалов;  $m$  — число отсчетов  $U$ . При отведении ЭЭГ от твердой мозговой оболочки величина  $\sigma$  для фоновой активности составляет 50—100 мкВ.

Аналогичная характеристика (стандартное отклонение) используется и для описания градуальной активности отдельных нейронов ( $\sigma_n$ ). При изучении ритмических ЭЭГ, характеризующихся определенной амплитудой и частотой изменения разности потенциала, показателем величины ЭЭГ может служить амплитуда этих колебаний.

### 9.10. МНОГОДИПОЛЬНЫЙ ЭКВИВАЛЕНТНЫЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКИЙ ГЕНЕРАТОР ГОЛОВНОГО МОЗГА

В настоящее время в исследованиях ЭЭГ для моделирования электрической активности коры головного мозга рассматривают поведение совокупности токовых электрических диполей отдельных нейронов. Предложено несколько таких моделей, позволяющих объяснить отдельные особенности ЭЭГ. Рассмотрим модель М. Н. Жадина, которая на примере генеза ЭЭГ при отведении с твердой мозговой оболочки позволяет выявить общие закономерности возникновения суммарного внешнего электрического поля коры.

Основные положения модели: 1) внешнее поле головного мозга в некоторой точке регистрации — интегрированное поле, генерируемое токовыми диполями нейронов коры; 2) генез ЭЭГ обусловлен градуальной электрической активностью пирамидных нейронов; 3) активность разных пирамидных нейронов в определенной степени взаимосвязана (скоррелирована); 4) нейроны распределены по коре равномерно и их дипольные моменты перпендикулярны к поверхности коры; 5) кора плоская, имеет конечную толщину  $h$ , а ее остальные размеры бесконечны; со стороны черепа мозг ограничен плоской бесконечной токопроводящей средой. Основание первых двух положений рассмотрено выше. Остановимся на других положениях модели.

Очень большое значение для генеза ЭЭГ имеет взаимосвязь электрической активности пирамидных нейронов. Если бы градуальное изменение мембранного потенциала во времени происходило в каждом нейроне совершенно независимо от остальных клеток, переменная составляю-



щая потенциала их суммарного внешнего электрического поля была бы небольшой, так как увеличение потенциала за счет усиления активности одного нейрона в значительной мере скомпенсировалось бы хаотическим снижением активности других нейронов. Сравнительно высокая величина регистрируемой в опыте ЭЭГ заставляет предположить, что между активностями пирамидных нейронов существует *положительная корреляция*. Количественно это явление характеризуют *коэффициентом корреляции*  $R_k$ . Этот коэффициент равен нулю при отсутствии связи между активностями индивидуальных нейронов и был бы равен единице, если бы изменения мембранного потенциала (дипольных моментов) клеток происходили совершенно синхронно. Наблюдаемое в действительности промежуточное значение  $R_k$  свидетельствует о том, что деятельность нейронов синхронизована лишь частично.

Интегрированное поле множества диполей-нейронов было бы очень слабым при высоком уровне синхронизации, если бы векторы дипольных моментов элементарных источников тока были ориентированы в коре хаотически. В этом случае наблюдалась бы значительная взаимная компенсация полей индивидуальных нейронов. В действительности же, согласно цитологическим данным, дендритные стволы пирамидных клеток в новой коре (эти клетки составляют 75% от всех клеток коры) ориентированы практически одинаково, перпендикулярно поверхности коры. Поля, создаваемые диполями таких одинаково ориентированных клеток, не компенсируются, а складываются.

Расчеты, произведенные на основании всех этих положений, показали, что для ЭЭГ, отводимой от твердой мозговой оболочки,

$$\sigma = kh\sigma_{\text{нр}} \sqrt{R_k}, \quad (9.13)$$

где  $k$  — коэффициент, численно равный средней плотности пирамидных нейронов в коре;  $\rho$  — удельное сопротивление коры;  $\sigma_{\text{н}}$  — среднее стандартное отклонение изменения во времени дипольного момента нейронов;  $R_k$  — средний попарный коэффициент корреляции активности нейронов. Из независимых опытов можно найти параметры, входящие в формулу (9.13). Так, для кролика  $h \approx 0,0017$  м,  $\rho \approx 3$  Ом·м,  $k \approx 4 \cdot 10^{13}$ . По расчетам А. М. Гутмана,  $\sigma_{\text{н}} \approx 6 \cdot 10^{-15}$  А·м. Если принять  $R_k = 0,003$ , то рассчитанное на основании этих данных по формуле (9.13) стандартное отклонение ЭЭГ будет около 70 мкВ, т. е.

очень близко к действительным величинам. Принятое значение коэффициента корреляции  $R_k$  (а иногда и во много раз больше) наблюдается в опытах при исследовании различных типов электрической активности мозга.

Таким образом, внешнее электрическое поле головного мозга, обнаруживаемое в виде ЭЭГ, можно рассматривать как результат сложения полей пирамидных нейронов новой коры. Важное условие такого генеза ЭЭГ — одинаковая ориентация диполей нейронов и наличие положительной корреляции в их градуальной электрической активности; при этом достаточен даже очень низкий уровень попарной корреляции.

## Глава 10

### БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ. ПАССИВНЫЕ МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЫШЦ, КОСТЕЙ, КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ, ЛЕГКИХ

Механические процессы в живом мире протекают на разных уровнях организации, от целого организма до клетки и субклеточных структур, и относятся к числу важнейших явлений в организме. Биомеханические явления весьма разнообразны и включают в себя такие процессы, как функционирование опорно-двигательной системы организма, процессы деформации тканей и клеток, распространение волн упругой деформации, сокращение и расслабление мышц, конвекционное движение биологических жидкостей и легочного газа.

Особое место среди биомеханических явлений занимают процессы *биологической подвижности*, протекающие благодаря действию сократительных белков с использованием энергии АТФ. К ним относятся сокращение мышц у животных, движение ресничек и жгутиков у одноклеточных, движение листьев мимозы, движение хромосом в клетках при их делении и др.

#### 10.1. МЕХАНИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ БИОБЪЕКТОВ

Биологические структуры, такие как мышцы, сухожилия, кровеносные сосуды, легочная ткань и др., представляют собой *вязкоупругие* или *упруговязкие* системы.

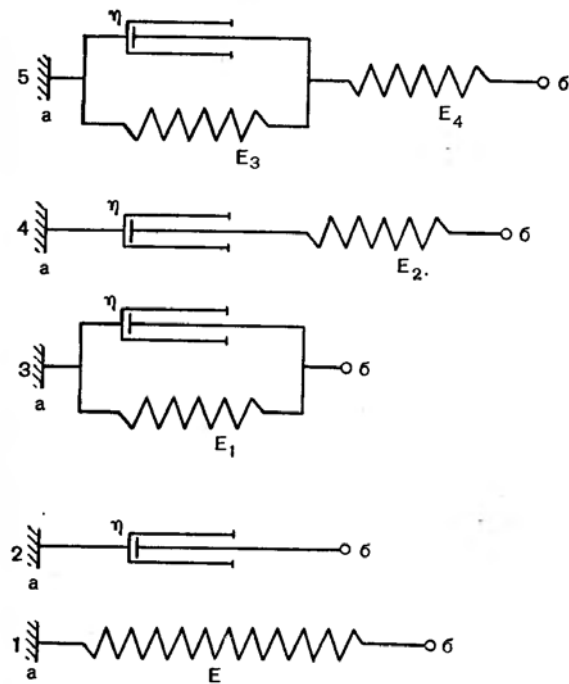


Рис. 75. Механические модели тканей.

1 — идеально упругая пружина; 2 — чисто вязкостный элемент; 3 — система из параллельно соединенных (1) и (2) (тело Фойгта); 4 — система из последовательно соединенных (1) и (2) (тело Максвелла); 5 — система из последовательно соединенных тела Фойгта и упругой пружины; а, б — закрепленный и подвижный концы (соответственно).

Их пассивные механические свойства, т. е. свойства, проявляющиеся при действии внешней силы, можно промоделировать сочетанием идеально упругих и вязких элементов (рис. 75).

Примером чисто упругого элемента служит идеально упругая пружина (см. рис. 75), в которой процесс деформации происходит «мгновенно» и подчиняется закону Гука:

$$\Delta l/l_0 = \varepsilon = \sigma/E, \quad (10.1)$$

где  $\sigma = f/s$  — напряжение;  $f$  — упругая сила, равная внешней силе (нагрузке), которая приложена перпендикулярно к поперечному сечению с площадью  $s$ ;  $E$  — модуль упругости;  $\varepsilon = \Delta l/l_0$  — относительная деформация;  $l_0$  и  $\Delta l$  — исходная длина и ее изменение при деформации.

Пример чисто вязкостного элемента — цилиндр с вязкой

жидкостью и неплотным поршнем (см. рис. 75). Изменение длины вязкостного элемента пропорционально времени  $t$  и зависит от приложенной силы  $f$ , площади поперечного сечения моделируемого объекта  $s$ , его исходной длины  $l_0$  и вязкости вещества этого объекта  $\eta$  в соответствии с уравнением:

$$\Delta l = fl_0 t / s \eta. \quad (10.2)$$

На рис. 75 (3—5) даны схемы механических моделей, отражающих основные свойства различных тканей. Механические характеристики таких систем изучают, либо прикладывая определенную растягивающую силу  $f$  и измеряя во времени длину системы  $l$  (изотонический режим деформации), либо ступенчато изменяя длину объекта и измеряя в новом изометрическом состоянии изменение во времени напряжения  $\sigma$ . Кривые изменения  $l$  для разных механических систем даны на рис. 76, а напряжения — на рис. 77. Обращают на себя внимание две особенности поведения сложных систем, состоящих из вязкостных и упругих элементов. Во-первых, под действием постоянной приложенной силы длина изменяется не мгновенно, а во времени; это явление называется ползучестью. Для параллельно соединенных упругого и вязкого элементов (случай 3 на рис. 75—76) удлинение во времени происходит по экспоненциальному закону:

$$\Delta l = \frac{l_0 f}{E_1 s} (1 - e^{-t/\tau_0}), \quad (10.3)$$

где  $l_0$  — исходная длина;  $\tau_0 = \eta/E_1$  и называется временем запаздывания.

С другой стороны, при ступенчатом удлинении возникшее в первый момент максимальное напряжение  $\sigma_0$  затем уменьшается по мере укорочения упругих элементов за счет удлинения вязкостных. Такая релаксация напряжения для систем 4 и 5 (рис. 75, 77) протекает согласно уравнениям

$$\sigma = \sigma_0 e^{-t/\tau}, \quad (10.4)$$

$$\sigma = \sigma_\infty + (\sigma_0 - \sigma_\infty) e^{-t/\tau}, \quad (10.5)$$

в которых  $\sigma$  — напряжение при данном  $t$ ;  $\sigma_0$  равно  $E_2 \varepsilon$  (уравнение (10.4) и  $E_4 \varepsilon$  (уравнение 10.5);  $\sigma_\infty = E_3 E_4 \varepsilon / (E_3 + E_4)$  и представляет собой предельное значение напря-

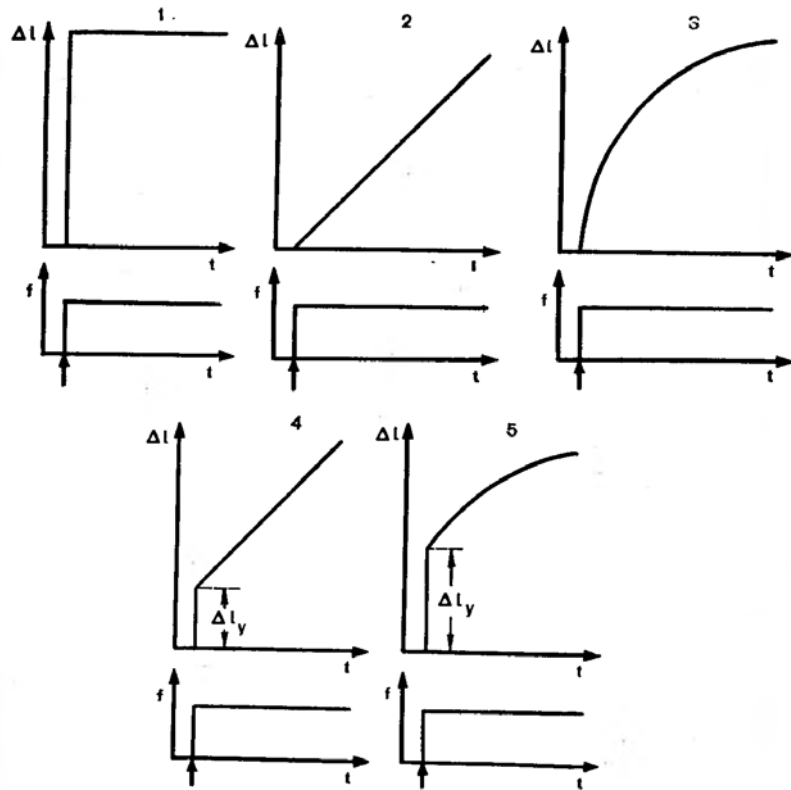


Рис. 76. Изменение длины ( $\Delta l$ ) различных механических систем (см. рис. 75) в зависимости от времени ( $t$ ) при приложении постоянной растягивающей силы  $f$  в момент, указанный стрелкой.  $\Delta l_y$  равно начальному мгновенному удлинению упругих элементов, соединенных последовательно с вязкоэлементами.

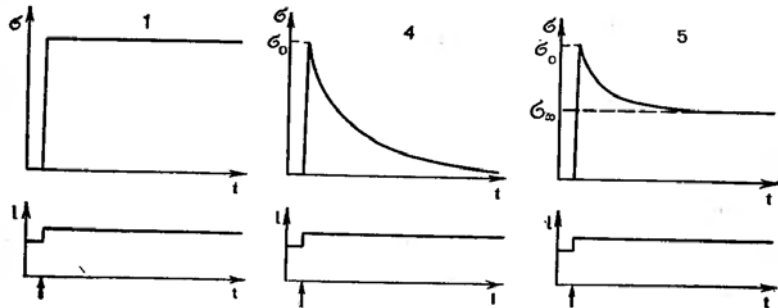


Рис. 77. Зависимость напряжения в механических системах от времени при их ступенчатом удлинении.

1, 4, 5 — системы, изображенные на рис. 75;  $\sigma$ ,  $l$ ,  $t$  — напряжение, длина и время (соответственно). Стрелка показывает момент удлинения.

жения при  $t \rightarrow \infty$ . Параметр  $\tau$  называется *временем релаксации*; для систем 4 и 5 он определяется соответственно соотношениями  $\tau = \eta/E_2$  и  $\tau = \eta/(E_3 + E_4)$ .

Модуль упругости систем, которые обладают свойством релаксации напряжения или ползучести, при расчете по уравнению (10.1), где  $f$  — внешняя сила, оказывается также изменяющимся во времени. Закон этого изменения можно найти, подставляя уравнения ползучести или релаксации напряжения в (10.1). Например, зависимости модуля упругости от времени  $E(t)$  при релаксации напряжения в случае систем 4 и 5 (рис. 75) имеют соответственно вид:

$$E(t) = \sigma/\epsilon = E_2 e^{-t/\tau}, \quad (10.6)$$

$$E(t) = \frac{E_3 E_4}{E_3 + E_4} + \left( E_4 - \frac{E_3 E_4}{E_3 + E_4} \right) e^{-t/\tau}. \quad (10.7)$$

## 10.2. МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЫШЦ И КОСТЕЙ

При приложении растягивающей силы к гладким мышцам они ведут себя в основном подобно *телу Максвелла* (см. рис. 75.4). Начальное напряжение, обусловленное упругостью элемента  $E_2$ , постепенно исчезает из-за необратимой деформации в вязком элементе  $\eta$ . Это способствует большой растяжимости полых органов, содержащих гладкие мышцы например, мочевого пузыря.

Скелетная мышца в покое по механическому поведению представляет собой вязкоупругий материал. В частности, для нее характерна релаксация напряжения. При внезапном растяжении мышцы на определенную величину напряжение резко возрастает, а затем уменьшается до определенного равновесного уровня. И, наоборот, когда мышца, находившаяся в растянутом состоянии, внезапно укорачивается, напряжение сильно падает и после этого выходит на меньший равновесный уровень. Иными словами, механические свойства скелетной мышцы во многих отношениях аналогичны свойствам модели 5 на рис. 75. Но в отличие от этой механической модели мышца характеризуется нелинейной зависимостью напряжения от длины (рис. 78). Соответственно модуль упругости  $E$  мышцы будет не постоянным, а различным при разных нагрузках. Находят такой модуль упругости (называемый *эффективным*, или *тангенциальным*) по модифицированному уравнению (10.1):

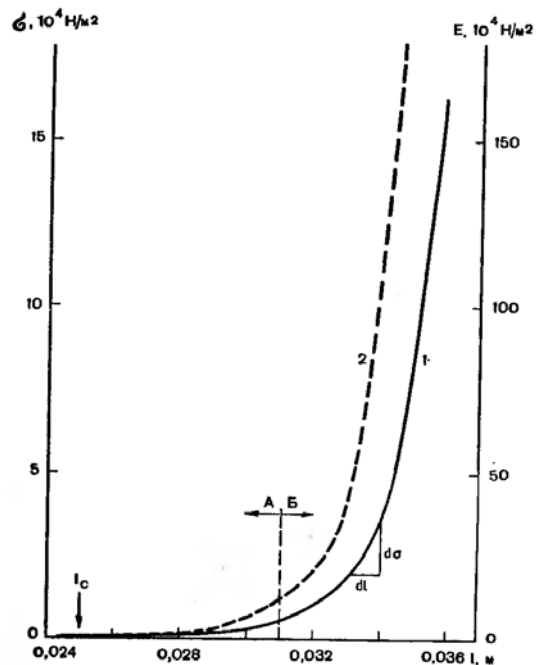


Рис. 78. Кривая растяжения портняжной мышцы лягушки в покое (1) [Хилл, 1952] и зависимость модуля упругости этой мышцы от длины (2).  $\sigma$  — напряжение;  $E$  — эффективный модуль упругости;  $l$  — длина мышцы;  $l_c$  — длина мышцы при ее определенном расположении в организме (стандартная длина) (масса мышцы 85,5 мг, температура 0°C).

$$E = \frac{d\sigma}{dl} l, \quad (10.8)$$

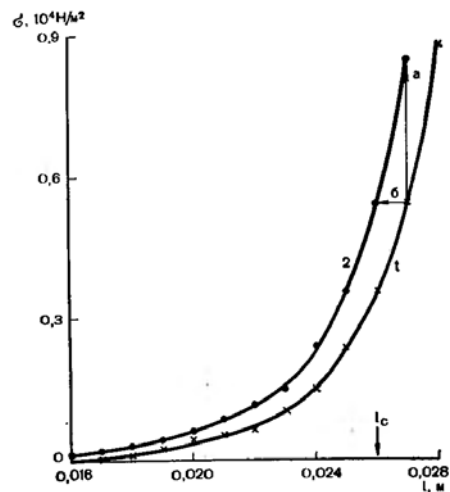
где  $dl$  — небольшое увеличение длины, а  $d\sigma$  — соответствующее увеличение напряжения. На графике зависимости  $\sigma$  от  $l$  («кривая растяжения») величина  $E$  находится через тангенс угла наклона касательной к оси  $l$  в точках, соответствующих интересующей нас  $l$  (абсцисса) или  $\sigma$  (ордината).

Эффективный модуль упругости покоящейся скелетной мышцы, как видно на рис. 78, резко возрастает при увеличении длины (напряжения). Сходная зависимость от  $l$  получается для эффективного модуля упругости артерий.

При разных удлинениях скелетная мышца по-разному реагирует на изменение температуры. По этой реакции кривую растяжения можно разделить на два участка — А и Б (см. рис. 78). В ответ на повышение температуры первый участок сдвигается вверх (рис. 79). При данной фиксированной длине возрастает напряжение, а если напряжение поддерживается постоянным, мышца укорачивается. На другом участке под влиянием нагревания на-

Рис. 79. Влияние температуры на начальный участок кривой растяжения портняжной мышцы жабы [Хилл, 1949].

1, 2 — кривые, соответствующие температуре 0 и 16°C; стрелки а и б показывают увеличение напряжения при неизменной длине и укорочение при фиксированном напряжении в результате повышения температуры (соответственно);  $l_c$  — стандартная длина мышцы, масса мышцы 60 мг.



блюдается обратная картина. Все это свидетельствует о том, что упругость скелетной мышцы при разных удлинениях имеет различную природу. Это находит объяснение при термодинамическом анализе процесса деформации мышцы (см. ниже).

Кости в соответствии с их опорной и защитной функциями резко отличаются по механическим свойствам от мышц и других биоматериалов. При небольших деформациях для костей справедлив закон Гука: напряжение пропорционально относительной деформации, модуль упругости не зависит от напряжения (рис. 80). Модуль упругости костей может достигать около  $10^8$  Н/м<sup>2</sup>, т. е. может на несколько порядков превышать эффективные модули упругости мышц практически при всех нетравмирующих нагрузках (см. рис. 78).

Кости характеризуются в целом очень высокой механической прочностью, хотя некоторые их участки проявляют относительно слабое сопротивление механическим нагрузкам. В зависимости от типа кости и участка в данной кости ее механическое разрушение начинается по достижении напряжения  $10^7$ — $10^8$  Н/м<sup>2</sup>. В сравнении с костями механическая прочность других биоматериалов низкая. Например, по данным Н. С. Хамина, ткань стенок крупных артерий выдерживает лишь напряжение  $3 \cdot 10^6$ — $4 \cdot 10^6$  Н/м<sup>2</sup>.

Интересная особенность механического поведения костей состоит в том, что при их деформации проявляется

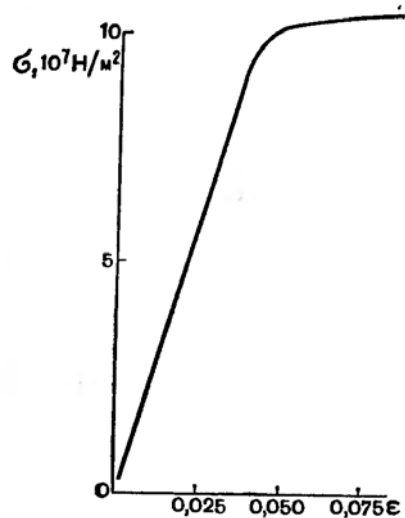


Рис. 80. Кривая деформации диафиза бедренной кости человека [Сеппо А., 1978].  
ε — относительная деформация.

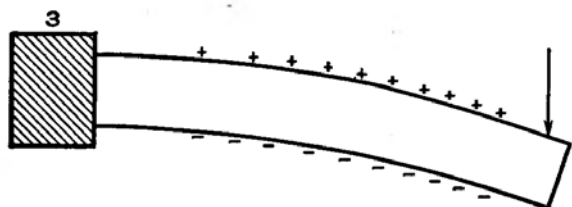


Рис. 81. Проявление пьезоэлектрического эффекта при деформации костной полоски. з — зажим; стрелкой показано направление действия деформирующей силы.

*пьезоэлектрический эффект.* Если костную полоску, закрепленную на одном конце, изгибать, то в зоне деформации между противоположными сторонами регистрируется определенная разность потенциалов с минусом на вогнутой стороне (рис. 81). В диапазоне упругой деформации эта разность потенциалов пропорциональна механическому напряжению. Есть основания считать, что генерация пьезоэлектричества имеет место при механических нагрузках костей в организме, и возникающие электрические токи могут стимулировать новообразование или рассасывание костной ткани.

### 10.3. МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТЕНКИ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ

Стенка всех кровеносных сосудов, за исключением капилляров, построена из вязкоэластического материала. Поэтому крупные сосуды способны к значительным обра-

Рис. 82. Кривые продольного растяжения образцов бедренной (1) и большой подкожной (2) артерии собаки.

$f_l$  — внешняя сила (нагрузка);  $l, l_0$  — данная длина и длина образцов сосудов в организме (соответственно).

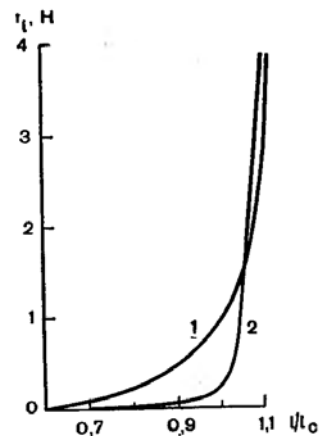
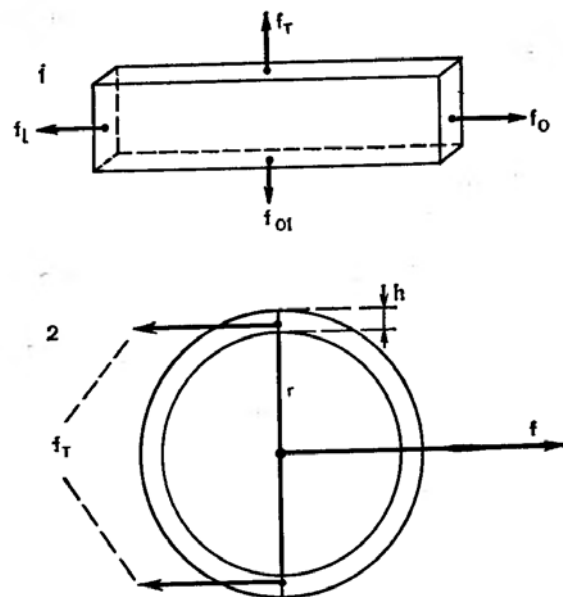


Рис. 83. Схема измерений кривых растяжения изолированной полоски сосудистой стенки (1) и схема к выводу уравнений деформации кровеносного сосуда (вид с торца) (2).



тимым изменениям размера при действии на их стенку внешней деформирующей силы, а также при активном сокращении и расслаблении гладкой мускулатуры самой стенки.

Для выяснения общих механических свойств сосудистой стенки и их изменения при патологических состояниях изучают ее изолированные полоски; при этом определяют кривые растяжения (см. рис. 83) при тангенциальной (по

направлению окружности поперечного сечения) или продольной (вдоль длинной оси сосуда) деформации под действием соответственно сил  $f_{01}$  и  $f_0$ . Статические кривые растяжения сосудистой стенки (рис. 82) подобны соответствующим характеристикам деформации скелетной мышцы (см. рис. 78).

Наибольший интерес представляет деформация целого сосуда. Ее обычно наблюдают в условиях, когда деформирующая сила создается внутренним избыточным давлением  $p$ . При варьировании  $p$  в основном изменяется просвет (площадь поперечного сечения) сосуда, а длину можно считать постоянной величиной. Такое явление происходит в организме в естественных условиях течения крови по кровеносным сосудам и играет большую роль в гемодинамических процессах (см. гл. 12). Найдем количественную связь между параметрами кровеносного сосуда и внутренним давлением.

Примем, что сосуд имеет цилиндрическую форму. Рассмотрим сегмент такого сосуда длиной  $l$  с внутренним радиусом поперечного сечения  $r$  и толщиной стенки  $h$  (рис. 83). Плоскостью, проходящей через диаметр, условно разделим сосуд в продольном направлении на две половины. Образовавшееся внутреннее сечение имеет площадь  $2rl$ . На эту площадку действует сила  $f$ , обусловленная давлением:  $f = p \cdot 2rl$ . Сила  $f$  стремится разъединить две половины сосуда, в результате чего в сосудистой стенке появляются упругие силы, направленные тангенциально (по касательной) к окружности поперечного сечения и перпендикулярно площадкам продольного сечения стенки. Суммарная тангенциальная упругая сила  $f_T$ , очевидно, определяется выражением  $f_T = \sigma_T \cdot 2hl$ , где  $\sigma_T$  — тангенциальное напряжение в стенке;  $2hl$  — сумма площадей продольных сечений стенки, к которым приложена  $f_T$ .

Силы  $f$  и  $f_T$  уравнивают друг друга, так что

$$2prl = 2\sigma_T hl, \text{ или } \sigma_T = pr/h. \quad (10.9)$$

Это выражение носит название уравнения Ламе. Оно описывает равновесное состояние сосуда при данном давлении  $p$ .

В общем случае при сдвиге  $p$  изменяются и  $r$  и  $h$ . Однако можно считать, что объем стенки, равный  $2\pi rhl$  при  $r \gg h$ , представляет собой неизменную величину, поскольку и  $l = \text{const}$ , произведение  $rh$  тоже можно принять в

качестве неизменного параметра. Тогда уравнение Ламе можно записать в виде

$$\sigma_T = pr^2/a_0, \quad (10.10)$$

где  $a_0 = rh$  и не зависит от  $p$  и  $r$ .

Проанализируем теперь состояние сосуда после изменения давления на  $dp$ , которому соответствуют изменения тангенциального напряжения на  $d\sigma_T$  и радиуса на  $dr$ . В этом состоянии давление, напряжение и радиус равны соответственно  $(p + dp)$ ,  $(\sigma_T + d\sigma_T)$  и  $(r + dr)$  и, согласно соотношению Ламе,

$$\sigma_T + d\sigma_T = \frac{(p + dp)(r + dr)^2}{a_0}. \quad (10.11)$$

Раскрывая скобки в правой части этого уравнения и пренебрегая членами, содержащими  $dpdr$  или  $(dr)^2$ , получаем

$$\sigma_T + d\sigma_T = \frac{pr^2}{a_0} + \frac{r^2 dp}{a_0} + \frac{2pr dr}{a_0} \quad (10.12)$$

Вычитая (10.10) из (10.12), имеем

$$d\sigma_T = \frac{r^2 dp}{a_0} + \frac{2pr dr}{a_0}. \quad (10.13)$$

В этом выражении  $d\sigma_T$  — это то тангенциальное напряжение, которому соответствует изменение длины стенки по окружности на  $2\pi(r + dr) - 2\pi r$ . По закону Гука

$$d\sigma_T = E \frac{2\pi(r + dr) - 2\pi r}{2\pi r} = E \frac{dr}{r}, \quad (10.14)$$

где  $E$  — эффективный модуль упругости сосудистой стенки.

При объединении уравнений (10.14) и (10.13) получается, что

$$dp = \left( \frac{Ea_0}{r^3} - \frac{2p}{r} \right) dr. \quad (10.15)$$

Это выражение легко преобразовать в зависимость изменения просвета сосуда от  $dp$ . Исходная величина просвета  $s$  равна  $\pi r^2$ , его изменение  $ds = d(\pi r^2) = 2\pi r dr$ . Отсюда  $dr = ds/2\pi r$ , и подстановка этого соотношения в (10.15) дает:

$$dp = \left( \frac{Ea_0}{2r^2 s} - \frac{p}{s} \right) ds. \quad (10.16)$$

Выражения (10.15) и (10.16) — основные уравнения деформации кровеносного сосуда: расширения при увеличении давления на  $dp$  или сужения при уменьшении давления на  $dp$ .

При высоком модуле упругости сосудистой стенки часто оказывается, что второй член в скобках в уравнениях (10.15) и (10.16) гораздо меньше первого члена и им можно пренебречь. Тогда уравнения деформации принимают более простой вид:

$$dp = \frac{Ea_0}{r^3} dr = \frac{Eh}{r^2} dr, \quad (10.17)$$

$$dp = \frac{Ea_0}{2r^2s} ds = \frac{Eh}{2rs} ds. \quad (10.18)$$

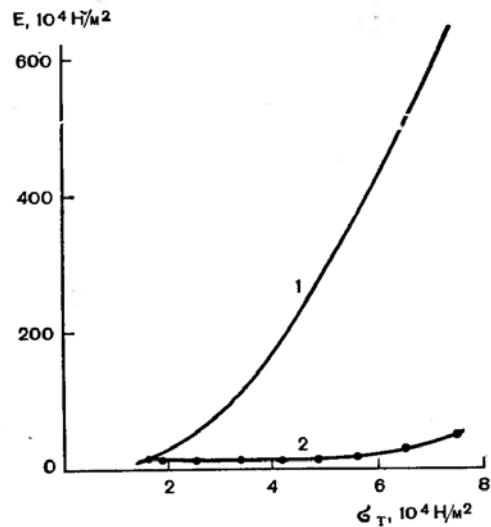
Эти выражения широко используются при описании течения крови, распространения пульса по кровеносным сосудам (см. гл. 12). Уравнения (10.15) и (10.16), а также (10.17) и (10.18) применяются для расчета эффективного модуля упругости сосудистой стенки, характеризующего тангенциальную деформацию. Для этого, как видно из указанных выражений, в эксперименте необходимо измерить давление внутри сосуда, его радиус, толщину стенки и изменение давления и радиуса.

Деформация сосудов артериальной части системы кровообращения протекает в организме в динамических условиях: подъем давления и последующий его спад совершаются за непродолжительное время. В этих условиях, как говорится на с. 197, модуль упругости зависит от времени и всегда выше модуля упругости, рассчитанного для состояния равновесия [см. уравнение (10.7)]. Для определения зависящего от времени *динамического модуля упругости* используются два метода. При первом методе искусственно вызывают периодическое изменение радиуса путем циклического механического сжатия сосуда и измеряют  $dp$  и  $dr$ , а затем рассчитывают модуль упругости по уравнению типа (10.15). В зависимости от частоты деформации динамический модуль упругости отражает упругие свойства стенки в разные моменты времени после начала деформации. Скажем, при частоте 5 Гц это время равно примерно 0,1 с.

Другой способ косвенный. Он состоит в измерении скорости распространения по сосуду волны давления (см. гл. 12, уравнение 12.18). На рис. 84 в качестве примера

Рис. 84. Зависимость эффективного модуля упругости ( $E$ ) нижней поллой вены собаки от тангенциального напряжения ( $\sigma_T$ ).

1, 2 — измерения в динамических и статических условиях (соответственно).



показана зависимость модуля упругости нижней поллой вены собаки от напряжения  $\sigma_T$  при исследовании в эксперименте *in situ*. Оказалось, что динамический модуль упругости резко возрастает при увеличении напряжения в сосудистой стенке (давления внутри сосуда) и, что особенно важно, может по крайней мере на порядок превосходить статический модуль упругости (см. рис. 84). Аналогичная картина наблюдается на артериях человека. Например, динамический модуль упругости (определяемый первым способом при частоте деформации 10 Гц) восходящей дуги аорты может составлять в зависимости от возраста  $10^6$ - $3 \cdot 10^6 \text{ Н/м}^2$ , а статический — всего около  $5 \cdot 10^4 \text{ Н/м}^2$ . Совершенно ясно, что быстротекающие процессы деформации кровеносных сосудов в организме необходимо описывать динамическим, а не статическим модулем упругости.

#### 10.4. МЕХАНИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ЛЕГКИХ

При вдохе, обеспечиваемом сокращением дыхательных мышц, возрастает разность давлений между газом внутри альвеол и жидкостью в плевральной полости (*транспульмональное давление*). В результате этого легкие растягиваются (их объем увеличивается). Это растяжение имеет эластический характер, поэтому при падении транспуль-

монального давления легкие сжимаются, выталкивая воздух — происходит выдох. Таким образом, работа выдоха непосредственно выполняется самими легкими за счет энергии, накапливаемой при упругой деформации во время вдоха.

При анализе упругих свойств легких, в отличие от других органов и тканей, необходимо учитывать дополнительную силу, сжимающую альвеолы: *силу поверхностного натяжения* жидкости, выстилающей стенку альвеол, на ее границе с легочным газом. Рассмотрим этот вопрос с точки зрения теории.

Примем, что альвеолы имеют внутреннюю сферическую поверхность с радиусом  $r_a$ . В результате того что в альвеолах имеется поверхностное натяжение  $\sigma_a$ , поверхность альвеол уменьшается на некоторую величину  $ds$ , и, следовательно, объем уменьшается на величину  $dV_a$ . При этом сила поверхностного натяжения выполняет работу:

$$dW = \sigma_a ds = \sigma_a d(4\pi r_a^2) = 8\pi\sigma_a r_a dr_a. \quad (10.19)$$

Эта работа затрачивается на увеличение энергии сжатого в альвеоле газа, которое равно  $p_a dV_a$  ( $p_a$  — внутриальвеолярное давление, создаваемое поверхностным натяжением). Заменив  $dW$  в уравнении (10.19) на  $p_a dV_a = p_a d\left(\frac{4}{3}\pi r_a^3\right) = 4\pi p_a r_a^2 dr_a$ , получаем:

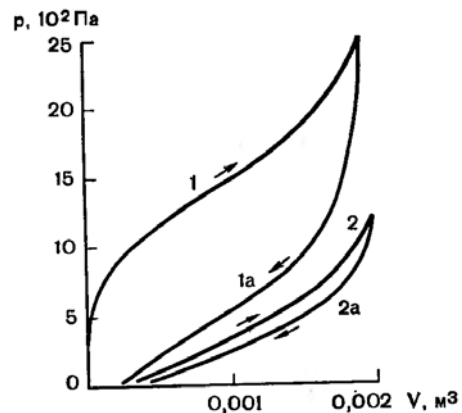
$$p_a = 2\sigma_a / r_a. \quad (10.20)$$

Это выражение носит название уравнения Лапласа. Оно показывает, какое давление  $p_a$  оказывается сферической поверхностью радиусом  $r_a$  на объем внутри сферы.

Из уравнения Лапласа видно, что  $p_a$  имеет большое значение, если размеры сферы малы. Средний радиус альвеол — около 150 мкм. Примем, что поверхностное натяжение на границе альвеол с альвеолярным газом равно поверхностному натяжению на границе воздух — плазма крови (0,055 Н/м). В этом случае расчет по уравнению (10.20) дает  $p_a \approx 700$  Па. Таким образом, теоретически силы поверхностного натяжения в альвеолах могут оказывать сравнительно сильное давление на альвеолярный газ. Получается, что транспульмональное давление  $p$  уравновешивается не только давлением, обусловленным упругими силами деформации легочной ткани  $p_T$ , но и поверхностным давлением, определяемым уравнением Лапласа (10.20):

Рис. 85. Диаграммы растяжения изолированных легких человека.

1, 1a — растяжение ателектических легких и их последующее сжатие в воздушной среде (соответственно); 2, 2a — растяжение ателектических легких и последующее их сжатие в физиологическом растворе (соответственно).



$$p = p_T + 2\sigma_a / r_a. \quad (10.21)$$

Значение упругости легочной ткани и поверхностного натяжения в альвеолах для функционирования легких обнаруживается в экспериментальных исследованиях растяжения и сжатия изолированных легких при их заполнении разными средами. Кривые зависимости транспульмонального давления  $p$  от объема  $V$  вводимой среды (объема легких) получили название  $p - V$ -диаграмм. Примерные  $p - V$ -диаграммы изолированных легких человека изображены на рис. 85. Спавшиеся (ателектические) легкие при первоначальном повышении давления вводимого воздуха практически не изменяют своего объема, пока транспульмональное давление не достигает некоторого критического значения; затем объем резко возрастает при сравнительно небольшом изменении  $p$  (рис. 85, кривая 1). При обратном процессе — постепенном удалении воздуха — кривая идет значительно ниже. Таким образом, цикл растяжения спавшихся легких и последующего их сжатия характеризуется сильным гистерезисом. При использовании в качестве наполнителя водных сред, например, физиологического раствора,  $p - V$ -диаграммы имеют иной вид, отличаясь от рассмотренных выше в двух отношениях: кривые растяжения и сжатия располагаются гораздо ниже, т. е. данный объем достигается при меньшем транспульмональном давлении; гистерезис хотя и проявляется, но значительно слабее.

Впервые объяснение различия в механических свойствах легких при их наполнении разными средами было дано в 1929 г. Неегардом. У заполненных водным раство-



ром легких поверхность альвеол и их внутренняя среда близки по физическим свойствам. Поэтому в уравнении (10.21)  $\sigma_a \approx 0$ , и транспульмональное давление преодолевает лишь давление  $p_t$ . В газовой среде величины  $\sigma_a$  и  $2\sigma_a/r_a$  могут быть сравнительно высокими, и соответственно уравнению (10.21) для достижения данного объема легких требуется приложить более высокое транспульмональное давление.

Наличие у ателектических легких критического транспульмонального давления, ниже которого они не заполняются воздухом, тоже можно объяснить влиянием сил поверхностного натяжения. Возможно, что у спавшихся легких радиус кривизны большинства альвеол невелик, и они в соответствии с уравнением Лапласа (10.20) не заполняются воздухом при низких значениях  $p$ . Объем легких начинает увеличиваться лишь, когда давление поднимается до уровня, удовлетворяющего уравнению (10.20).

Наконец, можно подумать, что гистерезис механических характеристик легких, заполняемых воздухом, также связан с поверхностными явлениями, поскольку этот эффект слабее проявляется при заполнении легких водным раствором.

По данным измерения  $p - V$ -диаграмм можно рассчитать работу выдоха, совершаемую силами упругости легочной ткани и силами поверхностного натяжения в отдельности. На  $p - V$ -диаграмме суммарная работа сжатия легких (выдоха) пропорциональна площади, ограниченной осью  $V$  и кривой 1а (см. рис. 85). Работа, совершаемая силами тканевой деформации, определяется площадью между кривой 2а и осью  $V$ . Разность этих величин, т. е. площадь между кривыми 1а и 2а, пропорциональна работе сил поверхностного натяжения. Основанные на таких измерениях подсчеты показали, что до 50% работы легких по выдоху может осуществляться силами поверхностного натяжения.

### 10.5. МЕХАНИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ АЛЬВЕОЛ

Хотя сила поверхностного натяжения в альвеолах и упругость легочной ткани играют одинаковую роль в создании определенного давления на газ внутри альвеол, эти два компонента зависят противоположным образом от радиуса альвеол, и это обстоятельство оказывается

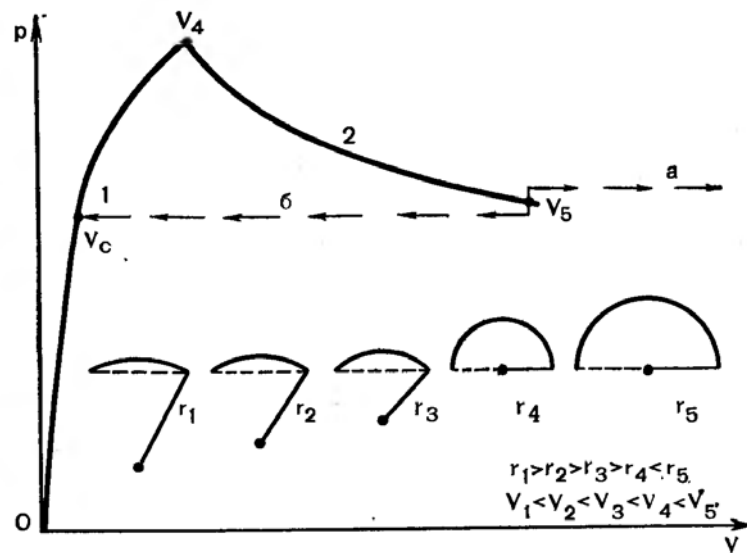


Рис. 86. Диаграмма растяжения альвеолы с неупругой тканью при постоянном поверхностном натяжении.

1, 2 — участки геометрической стабильности и нестабильности (соответственно);  $r_1 - r_3$  — радиусы сферических сегментов;  $r_4, r_5$  — радиусы полусфер;  $V_1 - V_5$  — объемы. Стрелки а и б показывают разрыв и спадение альвеолы, находившейся в нестабильном состоянии с объемом  $V_5$ .

важным для длительного сохранения объема альвеол при данном транспульмональном давлении.

Начнем с того, что при легко растяжимой, неупругой стенке альвеол  $p_t$  равно нулю, и уравнение (10.21) превращается в уравнение Лапласа (10.20). Такая альвеола в виде сферы (или, как показано на рис. 86, в виде полусферы) и при постоянном  $\sigma_a$  может существовать, когда ее объем (радиус) увеличивается с уменьшением транспульмонального давления (участок 2 на рис. 86). Однако при этом альвеола *нестабильна*, т. е. при случайном возрастании транспульмонального давления  $p$  на небольшую величину давление поверхности будет меньше  $p$  и радиус альвеолы возрастает. Это приводит к еще большему увеличению разницы между  $p$  и давлением поверхности и т. д. Объем альвеолы будет возрастать неограниченно (стрелки а на рис. 86) и альвеола лопнет. Если транспульмональное давление случайно или при выдохе снизится, давление альвеолярной поверхности будет меньше  $p$  и радиус альвеолы уменьшится, разница между  $p$  и по-

верхностным давлением еще больше увеличится и т. д. Альвеола спадает (коллапсирует) до некоторого гораздо меньшего объема  $V_c$  (стрелки б на рис. 86).

Альвеолы стабильны в состоянии сферических сегментов, объем которых возрастает за счет увеличения высоты при одновременном снижении радиуса поверхности (см. рис. 86). При этом с ростом транспульмонального давления объем альвеолы увеличивается (участок 1 на рис. 86) по закону Лапласа, и всякое изменение этого давления уравнивается сдвигом давления альвеолярной поверхности, происходящим за счет изменения радиуса. Предел такой *геометрической стабильности* достигается в состоянии полусферы (или сферы) с минимальным радиусом (объем  $V_4$  на рис. 86), которая следует за сферическими сегментами при уменьшении радиуса.

При больших объемах и высоком транспульмональном давлении альвеолы стабильны благодаря упругости легочной ткани. Такая *тканевая стабилизация* альвеол заключается в том, что любое изменение транспульмонального давления и неблагоприятный для стабильности альвеолы сдвиг поверхностного давления уравниваются изменением  $p_t$ .

Тканевая стабилизация слабо проявляется у альвеол с промежуточным объемом, при котором ткань имеет небольшой модуль упругости и, следовательно, создает невысокое  $p_t$ . В этом случае коллапс альвеол предотвращается тем, что неблагоприятное изменение радиуса (см. выше) компенсируется уменьшением поверхностного натяжения при снижении объема. Величина поверхностного натяжения в альвеолах при больших объемах составляет около 0,05, а при низких объемах — всего 0,005—0,01 Н/м.

Механическая стабилизация альвеол путем *изменения поверхностного натяжения*, вероятно, обусловлена сурфактантом. *Сурфактант* синтезируется в гранулярных пневмоцитах и представляет собой смесь липидов (около 90% по массе) и белков. Около половины липидов составляет насыщенный фосфолипид дипальмитоилфосфатидилхолин, практически не встречающийся в других органах животных. Сурфактант в виде жидкой пленки покрывает внутреннюю поверхность альвеол. Дипальмитоилфосфатидилхолин в сурфактанте, вероятно, образует монослой на поверхности указанной пленки, как это происходит при помещении других фосфолипидов на границу вода —

воздух. Полагают, что сдвиг поверхностного натяжения в альвеолах при изменении их объема определяется перестройкой указанного монослоя.

#### 10.6. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ УПРУГИХ СВОЙСТВ БИООБЪЕКТОВ

Упругие свойства и прочность тканей, за исключением костей, в основном определяются *эластиновыми* и *коллагеновыми волокнами* и их комплексами. Повышенные прочность и модуль упругости костей обусловлены наличием «стекловолоконистых» структур, построенных из коллагена и кристаллов гидроксилатапата.

Белки эластина и коллаген входят в состав именно тех тканей, которые постоянно подвергаются механическим нагрузкам. Например, в легких коллаген и эластина составляют соответственно 12—20 и 5—10% сухой массы. В стенке крупных кровеносных сосудов на эти белки может приходиться около 50% сухой массы. Соотношение количества эластина и коллагена в артериальных стенках меняется по ходу кровеносной системы. В стенке грудной аорты эластина в  $1\frac{1}{2}$  раза больше, а в брюшной аорте и других крупных артериях примерно в 3 раза меньше, чем коллагена. Поскольку механические параметры волокон эластина и коллагена неодинаковы, различие в их содержании, а также в пространственном расположении в сосудистой стенке приводит к тому, что упругие свойства разных сосудов сильно отличаются.

Эластиновые нити обладают сравнительно высокой растяжимостью, т. е. низким модулем упругости при растяжении вдоль волокна:  $(0,4—1,0) \cdot 10^6$  Н/м<sup>2</sup>. Коллагеновые нити имеют на порядок более высокий модуль упругости  $(0,5—1,0) \cdot 10^7$  Н/м<sup>2</sup>, т. е. характеризуются более низкой способностью к растяжению. Считают, что в тканях волокна эластина находятся под напряжением уже при умеренном растяжении. Коллагеновые волокна сами по себе оказываются в состоянии натяжения лишь при сильной деформации тканей. Обладая высоким модулем упругости и прочностью, эти волокна предотвращают разрыв сухожилий, стенок кровеносных сосудов и других тканей при больших механических нагрузках, а в легких обеспечивают тканевую стабилизацию альвеол при больших объемах. При слабой деформации тканей нити коллагена не растянуты, но при этом деформируется их сеть.

Наиболее детально природа деформации тканей при разных удлинениях изучена на скелетных мышцах термодинамическими методами. Будем рассматривать деформацию мышцы в условиях постоянства ее объема и неизменной температуры. Согласно законам термодинамики (см. гл. 1), изменение свободной энергии мышцы в процессе деформации под действием внешней силы  $f$  представляет собой механическую работу  $f\Delta l$ , совершаемую над мышцей по ее удлинению на  $\Delta l$ . На основании этого из уравнения (1.2), в котором  $\Delta H = \Delta U$  вследствие постоянства объема, получаем:

$$f = -T\Delta_l S/\Delta l + \Delta_l U/\Delta l, \quad (10.22)$$

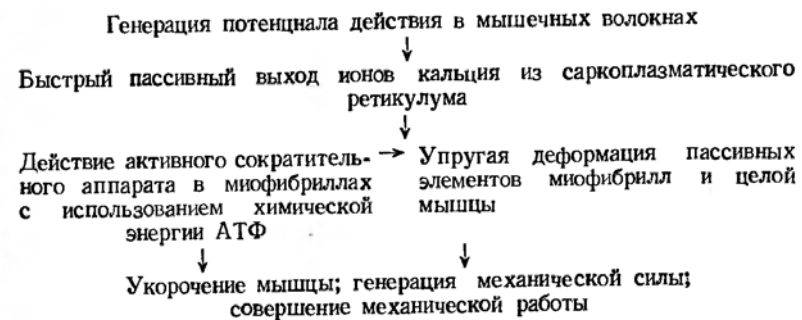
где нижний индекс  $l$  обозначает зависимость от длины. Из этого уравнения видно, что возникающая при растяжении мышцы упругая сила (правая часть уравнения) определяется изменением энтропии  $\Delta_l S$  и изменением внутренней энергии  $\Delta_l U$ . Представляют интерес два крайних случая.

Если  $\Delta_l U = 0$ , то упругая сила описывается только первым членом в правой части уравнения (10.22) и ее возникновение связано с уменьшением энтропии, поскольку этот член положителен по знаку при  $\Delta_l S < 0$ . Уменьшение энтропии означает, что в процессе удлинения должна выделяться теплота. Такой тепловой эффект наблюдается в опыте на мышце при ее растяжениях, соответствующих участку А на рис. 78. Следовательно, эта деформация сопряжена с уменьшением энтропии, и ее механизм заключается в ориентации подвижных звеньев молекул белков, отвечающих за упругие свойства мышц, вдоль направления силы  $f$ . При этом происходит упорядочение молекулярной структуры мышцы, уменьшается число возможных конформаций (состояний) белков. Составляющую  $-T\Delta_l S/\Delta l$  в уравнении (10.22) часто называют *термокинетической упругой силой*.

При сильном растяжении мышцы, когда развивается высокое напряжение (участок Б на рис. 78), наоборот, поглощает тепло. Это объясняется тем, что при такой деформации  $-T\Delta_l S/\Delta l \ll \Delta_l U/\Delta l$ ; процесс растяжения связан в основном с ростом внутренней энергии. Механизм деформации состоит в увеличении межатомных расстояний в молекулах белков; возникающая при этом упругая сила обусловлена притяжением между атомами.

## МЕХАНИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ ПРИ СОКРАЩЕНИИ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ У ПОЗВОНОЧНЫХ

Функционирование мышцы (мышечного волокна) связано с протеканием разнообразных физических и биохимических процессов. При этом основные физические процессы протекают в такой последовательности:



В этой главе в основном рассматриваются механические явления в сокращающейся мышце.

### 11.1. ФЕНОМЕНОЛОГИЧЕСКИЕ СООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ НАГРУЗКОЙ, СКОРОСТЬЮ СОКРАЩЕНИЯ И ОБЩЕЙ МОЩНОСТЬЮ МЫШЦЫ

Если пренебречь массой самой мышцы, то в соответствии со вторым законом Ньютона сила ( $f$ ), которую развивает сокращающаяся мышца, подчиняется уравнению

$$f = Ma_n + P, \quad (11.1)$$

где  $M$  — масса нагрузки,  $a_n$  — ее ускорение;  $P$  — внешняя сила, например, вес нагрузки, которую поднимает сокращающаяся мышца. В условиях эксперимента стараются сделать ускорение небольшим, и тогда  $f \approx P$ .

Сила мышцы и преодолеваемая ею нагрузка ( $P$ ) не единственные характеристики мышечного сокращения. Не менее важны скорость укорочения  $v$ , определяемая соотношением  $v = dx/dt$  ( $dx$  — величина укорочения мышцы за время  $dt$ ); механическая работа  $Px$  ( $x$  — величина укорочения мышцы) по перемещению нагрузки; механиче-

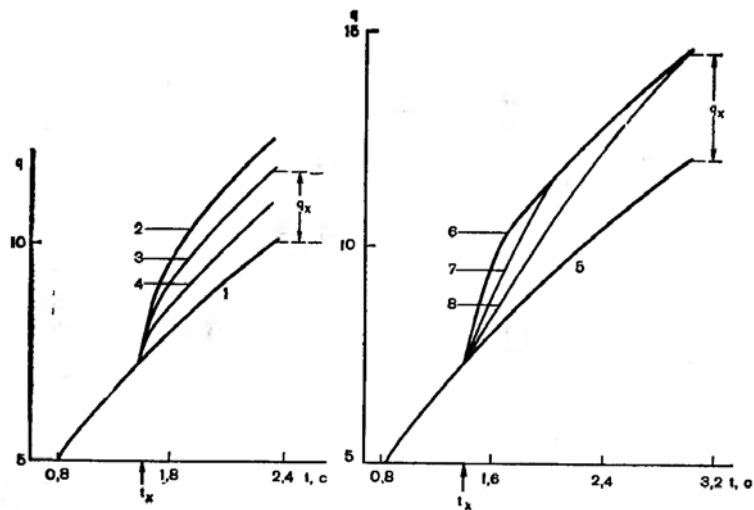


Рис. 87. Кинетические кривые выделения теплоты при тетаническом сокращении портняжной мышцы лягушки [Хилл, 1938]. 1, 5 — изометрическое тетаническое сокращение при длине 0,0295 м; 2, 3, 4 — изотоническое укорочение (нагрузка около 0,003 Н) соответственно на 0,0052, 0,0036 и 0,0019 м; 6, 7, 8 — изотоническое укорочение на 0,0052 м с нагрузкой соответственно 0,03, 0,14 и 0,25 Н;  $q$  — теплота в относительных единицах;  $t$  — время после начала стимуляции;  $t_x$  — начало укорочения. Масса мышцы — 89 мг.

ская мощность  $Pv$ ; теплопродукция (выделяющаяся теплота)  $q_x$ , которая равна работе  $A$ , затрачиваемой на укорочение самой мышцы; общая работа сокращения  $W$ , равная  $(Px + A)$ ; общая мощность  $dW/dt$ ; коэффициент полезного действия  $\alpha$ . Между этими характеристиками существуют общеизвестные соотношения:

$$\frac{dW}{dt} = Pv + \frac{dA}{dt} = Pv + \frac{dq_x}{dt}, \quad (11.2)$$

$$\alpha = Pv \left/ \frac{dW}{dt} \right. . \quad (11.3)$$

В этих уравнениях нагрузка  $P$ , скорость сокращения  $v$  и теплопродукция  $q_x$  выступают в качестве независимых переменных. Однако еще в 1938 г. Хилл показал, что в случае работы мышц между  $P$ ,  $v$  и  $q_x$  имеются определенные соотношения. Найденные Хиллом эмпирические уравнения не только позволяют рассчитывать работу и скорость сокращения мышц в разных условиях, но и служат

пробным камнем для современных молекулярных теорий мышечного сокращения.

В первой серии опытов Хилл определял выделяемое мышцей тепло  $q_x$  в ходе ее укорочения в изотоническом режиме, т. е. при постоянной  $P$ . Измерения  $q_x$  проводились при нескольких значениях  $P$  и различных  $x$ .

На кривых теплопродукции (рис. 87) тепло  $q_x$ , выделяющееся в результате укорочения мышцы, соответствует разности между теплом, выделенным мышцей, *сократившейся* на длину  $x$ , и теплом, выделенным мышцей в состоянии тетануса в *изометрическом* режиме ( $x = 0$ ). Оказалось, что  $q_x$  не зависит от нагрузки  $P$ , но зато всегда прямо пропорционально величине укорочения  $x$ :

$$q_x = ax, \quad (11.4)$$

где  $a$  — постоянный для данной мышцы коэффициент, имеющий размерность силы (т. к.  $q_x$  — энергия, а  $x$  — путь).

Во второй серии экспериментов Хилл исследовал зависимость между нагрузкой мышцы  $P$  и скоростью ее изотонического укорочения  $v$ .

В первоначальном варианте измерялось изменение во времени длины мышцы в изотоническом режиме, как это, например, показано на рис. 88;  $v$  соответствует тангенсу угла наклона зависимости  $x(t)$ , т. е. отношению  $x_1/(t_1 - t_0)$  на рис. 88. Кривая зависимости определяемой таким образом скорости от нагрузки имеет характер *гиперболы* (рис. 89) и может быть описана соответствующим эмпирическим уравнением. Однако наиболее четкий результат был получен, когда Хилл построил зависимость общей мощности мышцы от приложенной нагрузки  $P$ . Выражение для  $dW/dt$  было получено из уравнений (11.2) и (11.4):

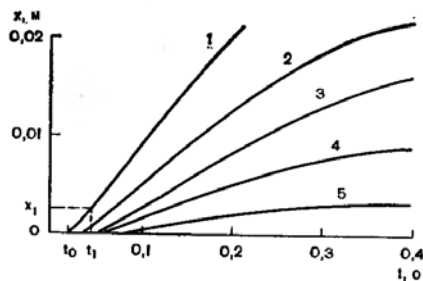
$$\frac{dW}{dt} = Pv + a \frac{dx}{dt} = (P + a)v. \quad (11.5)$$

При этом величина  $a$  находилась из опытов по определению теплопродукции мышцы [уравнение (11.4)].

Зависимость  $dW/dt$  от  $P$  оказалась линейной (рис. 90), т. е. описывалась уравнением:

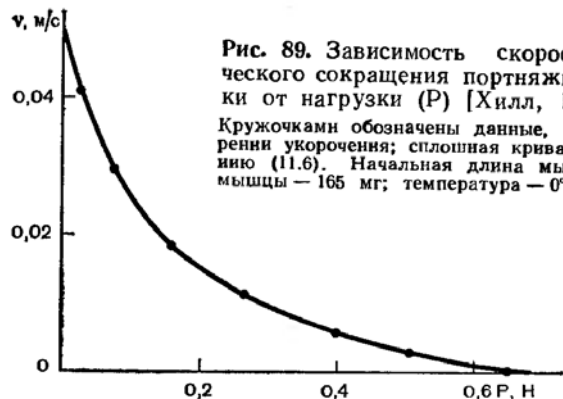
$$(P + a)v = b(P_0 - P), \quad (11.6)$$

где  $b$  — тангенс угла наклона полученной прямой, а  $P_0 = P$  при  $v = 0$ . Физический смысл величины  $P_0$  заключается в том, что при данной нагрузке укорочение мышцы не происходит; иными словами,  $P_0$  — это сила, развиваемая



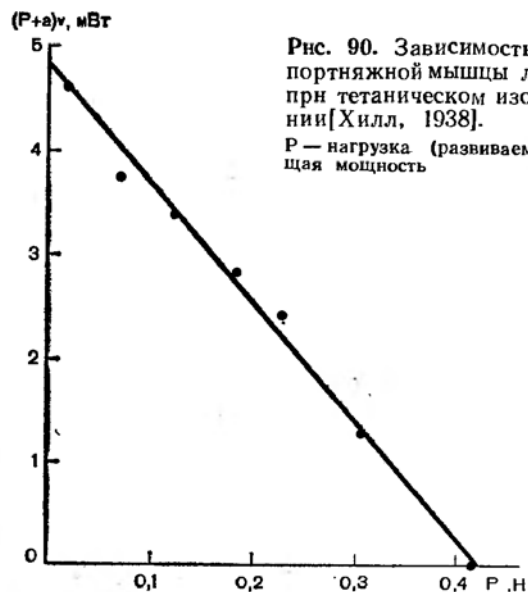
**Рис. 88.** Кинетические кривые изотонического укорочения портняжной мышцы лягушки в состоянии тетануса [Фенн, Марш, 1935].

1—5 — нагрузка около 0,04; 0,08; 0,12; 0,16; 0,24; 0,32 Н.  $x$  — величина укорочения;  $t$  — время после начала стимуляции. Начальная длина мышцы — 0,032 м; масса мышцы — 218 мг.



**Рис. 89.** Зависимость скорости ( $v$ ) изотонического сокращения портняжной мышцы лягушки от нагрузки ( $P$ ) [Хилл, 1938].

Кружочками обозначены данные, полученные при измерении укорочения; сплошная кривая — расчет по уравнению (11.6). Начальная длина мышцы — 0,038 м, масса мышцы — 165 мг; температура — 0°C.



**Рис. 90.** Зависимость суммарной мощности портняжной мышцы лягушки от нагрузки при тетаническом изотоническом сокращении [Хилл, 1938].

$P$  — нагрузка (развиваемая сила);  $(P+a)v$  — общая мощность

мая мышцей в изометрическом режиме сокращения. Зависимость  $v$  от  $P$ , рассчитанная по уравнению (11.6), изображена в виде сплошной кривой на рис. 89.

Эмпирические уравнения (11.4) и (11.6) называются уравнениями Хилла. В более поздних работах уравнение (11.6) подтверждено также в опытах, в которых задавалась скорость укорочения и регистрировалась развиваемая при этом сила.

## 11.2. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СОКРАТИТЕЛЬНОГО АППАРАТА МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКОН

Основная надмолекулярная двигательная структура мышечных волокон — *саркомер*, который, как известно, построен из *толстых* и *тонких нитей* и *Z-пластинки*. Нити саркомера имеют *гексагональную упаковку* (рис. 91), в которой каждая толстая нить может взаимодействовать с шестью тонкими нитями, а каждая тонкая нить — с тремя толстыми нитями.

Тонкая нить в основном построена из F-актина, находящегося в виде четвертичной структуры. Эта структура представляет собой двойную суперспираль, в которой каждая цепь состоит из глобул G-актина (см. рис. 91).

Толстая нить — комплекс молекул миозина. Отдельная молекула миозина сформирована из двух одинаковых длинных полипептидных цепей. Примерно 50% каждой полипептидной цепи миозина имеют вид  $\alpha$ -спирали. Эти две спирали образуют друг с другом одну суперспираль — стержень, длина которого составляет примерно  $\frac{2}{3}$  длины всей молекулы. Остальная часть полипептидных цепей находится в глобулярном состоянии; глобулы образуют головку миозина. Значительная часть белка в глобулах также имеет  $\alpha$ -спиральную вторичную структуру. В толстой нити молекулы миозина расположены вдоль ее большой оси, и при этом миозиновые головки выступают из нити и направлены от центра толстой нити к Z-пластинке саркомера.

При взаимном перекрывании толстые и тонкие нити могут взаимодействовать через *поперечные мостики*, состоящие из головки и небольшой части стержня миозина. Вдоль толстой нити эти мостики располагаются регулярно парами (см. рис. 91). Две смежные пары повернуты от-

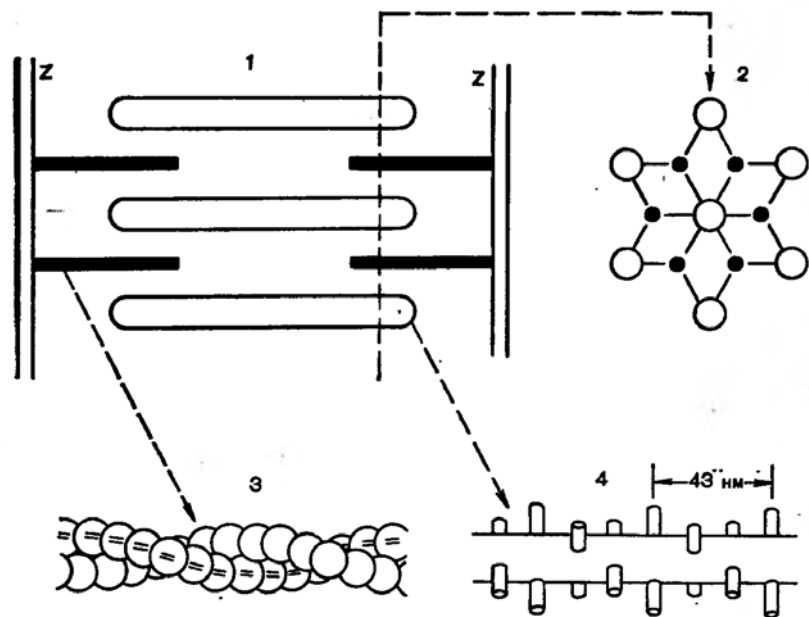


Рис. 91. Схема строения саркомера при продольном (1) и поперечном срезе в зоне перекрывания толстых и тонких нитей (2), строения F — актина в тонкой нити (3) и расположения поперечных мостиков в толстой нити (4).  
Z — Z-мембрана.

носительно друг друга на  $120^\circ$ , так что участок с 6 мостиками оказывается повторяющимся структурным элементом; его длина — 43 нм. В центральной части толстых нитей поперечные мостики отсутствуют, в покое мышечном волокне они находятся в разомкнутом состоянии.

Поперечные мостики могут замыкаться не на любом участке актиновой нити, а на ее дискретных центрах (глобулах). Это обнаруживается в экспериментах, в которых изолированные актиновые нити обрабатывались тяжелым меромиозином — фрагментом молекулы миозина, отщепляющимся под действием трипсина и содержащим головку и часть стержня. При такой обработке образуется комплекс, в котором частицы тяжелого меромиозина располагаются регулярно по спиральям активной нити и имеют стереотипную ориентацию.

### 11.3. СКОЛЬЖЕНИЕ ТОЛСТЫХ И ТОНКИХ НИТЕЙ КАК ОСНОВА МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

Процесс мышечного сокращения нельзя свести к укорочению толстых или тонких нитей, так как их длина существенно не меняется при умеренном укорочении мышечных волокон. Вместе с тем в ходе мышечного сокращения длина саркомеров уменьшается и решетки толстых и тонких нитей вдвигаются друг в друга. Если укорочение волокна невелико, гексагональное расположение нитей сохраняется; нити скользят относительно друг друга. Сила сокращения возникает при взаимодействии толстых и тонких нитей, заключающемся в замыкании поперечных мостиков. Одно из решающих доказательств такого механизма мышечного сокращения было получено при сопоставлении величины напряжения мышечного волокна со степенью перекрывания толстых и тонких нитей [Гордон, Хаксли А., Юлиан, 1966]. Изолированное мышечное волокно растягивали так, что вначале толстые и тонкие нити не перекрывались (состояние 1 на рис. 92), и затем определяли изометрическое напряжение сокращения при разных длинах саркомера. Было установлено, что напряжение возрастает линейно со степенью перекрывания нитей (рис. 93) и достигает максимального значения в состоянии 2, когда участки толстых нитей, содержащие поперечные мостики, полностью перекрыты тонкими нитями. При продолжении укорочения саркомера до момента схождения концов тонких нитей напряжение практически не меняется, поскольку число способных к нормальному замыканию мостиков в районе перекрывания остается неизменным. В ходе дальнейшего сокращения (состояние 3) напряжение начинает резко снижаться вследствие того, что после прохождения дальше центра толстых нитей перемещение тонких нитей приводит уже к появлению участков двойного перекрывания с неправильной ориентацией мостиков.

### 11.4. КИНЕТИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

К настоящему времени предложено несколько кинетических физико-математических моделей мышечного сокращения [Хаксли А., 1957; Дещеревский В. И., 1968; Влькенштейн М. В., 1969]. Одна из полных и хорошо обоснованных кинетических теорий мышечного сокращения раз-

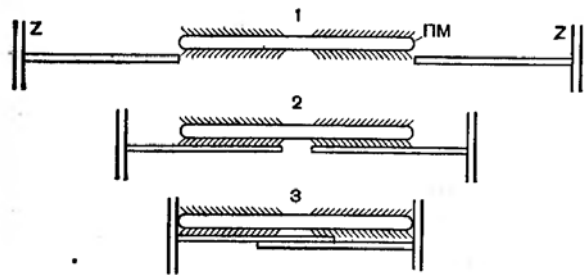


Рис. 92. Схема взаимодействия толстых и тонких нитей саркомера при разной степени их перекрытия (1, 2, 3). ПМ — поперечные мостики.

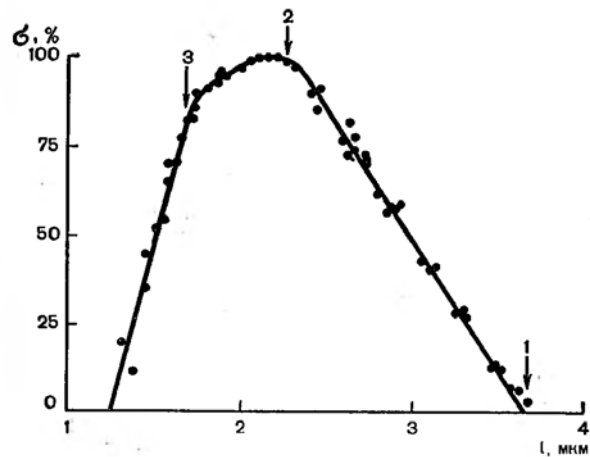


Рис. 93. Зависимость напряжения ( $\sigma$ ), развиваемого при изометрическом тетаническом сокращении изолированного мышечного волокна полусухожильной мышцы лягушки, от длины саркомеров (1) [Хаксли А., 1971].

Цифры над стрелками обозначают состояния саркомеров, изображенные на рис. 92.

работана В. И. Дещеревским (1968, 1977) и рассматривается ниже.

Основные положения данной теории:

1. Каждый поперечный мостик в процессе сокращения проходит последовательно через три состояния: свободное (*разомкнутое*) состояние около некоторого положения равновесия 0 на толстой нити (рис. 94); *тянущее замкну-*

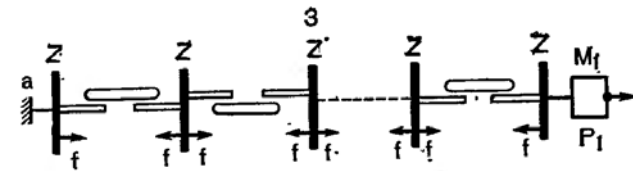
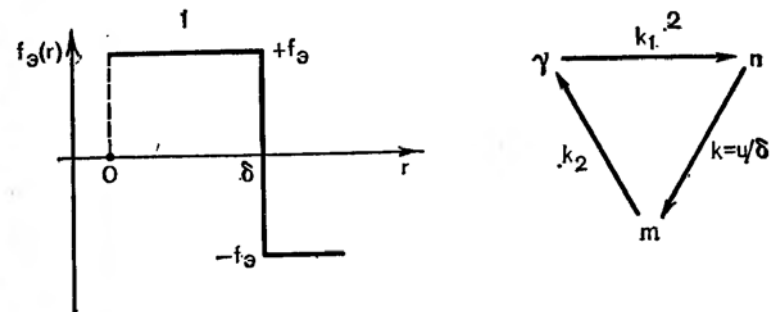


Рис. 94. Изменение силы  $f_s(r)$ , развиваемой поперечным мостиком (ПМ) при его смещении ( $r$ ) от положения равновесия (1), кинетическая схема переходов ПМ между различными состояниями (2) и схема нагруженного мышечного волокна (3).

0 — равновесное положение ПМ;  $+f_s$  — величина положительной силы, развиваемой замкнутым ПМ на расстояниях от 0 до  $r=\delta$  в тянущем состоянии;  $-f_s$  — величина отрицательной силы, развиваемой ПМ в тормозящем состоянии;  $f$  — сила, развиваемая полусаркомером;  $a$  — закрепленный конец мышечного волокна.  $\gamma$ ,  $n$ ,  $m$  — разомкнутое равновесное состояние, тянущее и тормозящее состояние ПМ (соответственно).

тое состояние, во время которого развивается тянущая сила  $f_s$ , и *замкнутое тормозящее* состояние, которое препятствует дальнейшему скольжению нитей и за которым следует переход в разомкнутое равновесное состояние.

2. *Элементарная сила  $f_s$*  постоянна и положительна (направлена к центру саркомера) на всем протяжении тянущего состояния. В тормозящем замкнутом состоянии мостика сила имеет то же абсолютное значение, но обратное направление (отрицательна).

3. Для любого данного мостика переходы между состояниями — *мономолекулярные* процессы, т. е. явления, не зависящие непосредственно от состояния других мостиков. Таким образом, весь цикл функционирования мостика может быть представлен в виде трех реакций первого порядка с константами скорости  $k_1$ ,  $k$  и  $k_2$  (см. рис. 94).

Особенность рассматриваемых процессов состоит в том, что константы их скорости могут быть зависимы от скоро-

сти скольжения нитей. В случае константы  $k$  (переход из тянущего в тормозящее состояние) такая зависимость определено имеет. Известно, что константа скорости любого превращения первого порядка есть величина, обратная времени, в течение которого данная структура (молекула) существует до момента превращения. Время жизни мостика в тянущем состоянии, очевидно, равно  $\delta/u$ , где  $\delta$  — путь, проходимый мостиком в тянущем состоянии, а  $u$  — скорость движения нитей относительно друг друга. Отсюда для константы скорости перехода мостика в тормозящее состояние имеем:

$$k = u/\delta. \quad (11.7)$$

Время жизни мостиков в свободном состоянии  $1/k_1$  и соответственно константу скорости замыкания  $k_1$  можно считать независимыми от  $u$ . Действительно, мостик замкнется, если он сам готов к замыканию, что не зависит от  $u$ , и если перед ним находится активный центр в тонкой нити в благоприятном для замыкания положении. Время пребывания данного центра тонкой нити перед мостиком уменьшается с повышением  $u$ , и соответственно снижается вероятность замыкания мостика на этом центре. Но с ростом  $u$  увеличивается число активных центров в тонкой нити, проходящих мимо мостика за время  $1/k_1$ , и в среднем свободный мостик располагает одинаковым при всех  $u$  временем для замыкания на каком-либо активном центре тонкой нити.

4. Постулируется, что  $k_2$  и  $f_0$  не зависят от скорости скольжения нитей. Независимость от  $u$  константы скорости перехода мостика  $k_2$  из замкнутого тормозящего состояния в свободное равновесное означает, что процесс размыкания происходит в силу внутренних свойств комплекса мостика с активным центром тонкой нити по случайному закону за среднее время  $1/k_2$ .

Проверкой всех этих положений служат количественные следствия теории, которые мы теперь рассмотрим. Вначале выразим скорость и силу сокращения мышечного волокна через параметры саркомера. Поскольку две половины саркомера при сокращении волокна движутся навстречу друг другу, скорость укорочения саркомера равна удвоенной скорости укорочения *полусаркомера*, а полусаркомер, очевидно, укорачивается со скоростью скольжения нитей  $u$ . В мышечном волокне саркомеры следуют один за другим (соединены последовательно), и поэтому

скорость его укорочения  $v_1$  представляет собой сумму скоростей укорочения всех саркомеров:

$$v_1 = 2Nu, \quad (11.8)$$

где  $N$  — общее число саркомеров в мышечном волокне, а  $2u$  — скорость укорочения саркомера.

Из последовательного расположения саркомеров в мышечном волокне следует, что сила на его концах равна силе  $f$ , генерируемой в половине саркомера (рис. 94). Эта сила складывается из положительных элементарных сил, создаваемых мостиками в тянущем состоянии, и отрицательных сил, генерируемых мостиками в тормозящем состоянии:

$$f = nf_0 - mf_0. \quad (11.9)$$

где  $n$  и  $m$  — общее число мостиков в полусаркомере мышечного волокна, находящихся в данный момент соответственно в тянущем и тормозящем состояниях. Как и в случае целой мышцы [см. уравнение (11.1)], сила  $f$ , развиваемая мышечным волокном, вызывает движение нагрузки с ускорением  $dv_1/dt$  и преодолевает внешнюю силу  $P_1$ . Поэтому с учетом выражений (11.8) и (11.9) по второму закону Ньютона

$$(n - m) f_0 = 2M_1 N \frac{du}{dt} + P_1, \quad (11.10)$$

или

$$\frac{du}{dt} = \frac{1}{2M_1 N} [(n - m) f_0 - P_1], \quad (11.11)$$

где  $M_1$  и  $P_1$  — масса нагрузки и внешняя сила, приложенная к подвижному концу мышечного волокна (см. рис. 94).

Скорость изменения числа мостиков в замкнутом тянущем состоянии  $dn/dt$ , в соответствии со схемой 2 на рис. 94 и общими законами кинетики процессов первого порядка подчиняется кинетическому дифференциальному уравнению:

$$\frac{dn}{dt} = k_1 \gamma - kn, \quad (11.12)$$

где  $\gamma$  — число мостиков в разомкнутом состоянии. Учитывая (11.7) и вводя величину  $\alpha = \gamma + n + m$  (суммарное число мостиков в зоне одинарного перекрывания толстых и тонких нитей полусаркомера), получаем:



$$\frac{dn}{dt} = k_1(a - n - m) - \frac{u}{\delta} n. \quad (11.13)$$

Первый член в правой части этого уравнения — скорость перехода в тянущее состояние из равновесного разомкнутого состояния, а второй член — скорость перехода мостиков в тормозящее состояние. Аналогичное кинетическое уравнение для числа мостиков в тормозящем состоянии имеет вид:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{u}{\delta} n - k_2 m. \quad (11.14)$$

Выражения (11.11)—(11.14) составляют систему дифференциальных уравнений, по которой можно рассчитывать кинетику сокращения мышечного волокна, определять те или иные параметры, если известно нужное количество других параметров. Проанализируем один из важных видов мышечного сокращения — изотоническое укорочение с постоянной скоростью (начальный участок кривых на рис. 88), когда выполняются уравнения Хилла (11.4) и (11.6). Такой процесс укорочения наблюдается при практически полном перекрывании толстых и тонких нитей (состояние 2 на рис. 92), число мостиков в зоне перекрывания постоянно и равно общему количеству ( $\alpha_0$ ) мостиков в полусаркомере. Довольно ясно (и может быть специально доказано), что рассматриваемая система находится в стационарном состоянии, т. е. величины  $n$ ,  $m$  и  $u$  во времени не изменяются:

$$\frac{du}{dt} = 0, \quad \frac{dm}{dt} = \frac{dn}{dt} = 0. \quad (11.15)$$

В результате дифференциальные уравнения (11.11), (11.13) и (11.14) образуют систему алгебраических уравнений:

$$k_1(\alpha_0 - n - m) - un/\delta = 0; \quad un/\delta - k_2 m = 0; \quad n - m - P_1/f_0 = 0. \quad (11.16)$$

Найдя  $n$  и  $m$  из последних двух уравнений и подставляя их значения в первое, а затем проводя преобразования, получаем соотношение между скоростью укорочения полусаркомера (скольжения нитей) в мышечном волокне  $u$  и его нагрузкой  $P_1$ :

$$\left( P_1 + \frac{k_1 \alpha_0 f_0}{k_1 + k_2} \right) u = \frac{k_1 k_2 \delta}{k_1 + k_2} (\alpha_0 f_0 - P_1), \quad (11.17)$$

которое по существу и по форме аналогично уравнению Хилла (11.6) для целой мышцы. Для перехода от скорости укорочения полусаркомера к скорости укорочения мышечного волокна и целой мышцы уравнение (11.17) необходимо умножить на число полусаркомеров  $2N$  ( $v = 2Nu$ ), а умножение этого уравнения на число мышечных волокон в мышце  $N_0$  (при их параллельном расположении) позволяет перейти к нагрузке мышцы  $P = N_0 P_1$ . В результате этого уравнение (11.17) превращается в уравнение Хилла (11.6), в котором константы  $P_0$ ,  $a$  и  $b$  должны описываться выражениями

$$P_0 = N_0 \alpha_0 f_0; \quad a = P_0 k_1 / (k_1 + k_2); \quad b = 2N k_1 k_2 \delta / (k_1 + k_2). \quad (11.18)$$

Таким образом, кинетическая теория позволила объяснить феноменологическое уравнение Хилла (11.6). Кроме того, эмпирические константы, входящие в это уравнение, приобрели четкий физический смысл. Например, величина  $P_0/N_0 = \alpha_0 f_0$  представляет собой максимальную силу, которую может развивать одно мышечное волокно (его полусаркомер), когда все поперечные мостики находятся в тянущем состоянии. В выражениях (11.17) и (11.18) величина  $k_2 \delta$  является максимальной скоростью укорочения полусаркомера (скольжения нитей) при  $P_1 = 0$ , а произведение  $2N k_2 \delta = v_m$  — скоростью укорочения ненагруженной мышцы.

Используя полученные соотношения и опытные данные, удалось рассчитать наиболее важные физические параметры поперечных мостиков. Величина  $P_0$  в расчете на  $1 \text{ м}^2$  поперечного сечения в случае портняжной мышцы лягушки достигает  $3 \cdot 10^5 \text{ Н}$ , а число поперечных мостиков  $N_0 \alpha_0$  в одном полусаркомере составляет около  $10^{17}$  на  $1 \text{ м}^2$  поперечного сечения. Тогда из соотношения (11.18) следует, что  $f_0 \approx 3 \cdot 10^{-12} \text{ Н}$ . Для  $\delta$  было получено значение  $7-10 \text{ нм}$ .

## Глава 12

### ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

Биофизический анализ кровообращения — это описание взаимосвязи давления и скорости движения крови, а также их зависимости от физических параметров крови, кровеносных сосудов и функционирования сердца. Система кровообращения представляет собой сложную гидро-

динамическую систему. Движение и давление крови носит колебательный характер вследствие периодичности функционирования сердца. Система сосудов сильно ветвится, а свойства сосудов, например упругость стенки, изменяются по ходу сосудистого русла. Все это сильно осложняет физико-математическое описание функционирования полной системы кровообращения. Поэтому сейчас биофизическое исследование кровообращения ограничивается в основном решением двух проблем: 1) выяснение физических процессов, определяющих движение крови по сосудам; 2) теоретический и экспериментальный анализ движения крови в отдельных сосудах или небольшой совокупности сосудов. Упрощенную систему, которую при этом рассматривают, называют *гидродинамической моделью* кровообращения. Интересно, что во многих отношениях поведение гидродинамических систем оказывается аналогичным поведению электрических цепей: и те и другие обладают активным сопротивлением, в котором рассеивается энергия, инерционностью при распространении импульсов и т. д. Поэтому систему кровообращения можно моделировать *аналоговыми электрическими цепями*.

## 12.1. МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ

Всякая жидкость обладает определенной *вязкостью*  $\eta$ , которая представляет собой коэффициент пропорциональности между напряжением сдвига  $\sigma_c$  и градиентом скорости движения жидкости. Если этот градиент не равен нулю лишь в одном направлении ( $x$ ), то для такого однонаправленного течения

$$\sigma_c = \eta \frac{du}{dx}, \quad (12.1)$$

где  $\sigma_c = f_c/s$ ;  $f_c$  — сила сдвига, приложенная к площадке жидкости  $s$ , причем вектор  $\vec{f}_c$  лежит в плоскости  $s$ ;  $u$  — скорость движения жидкости при ее ламинарном течении на расстоянии  $x$  от плоскости  $s$ ;  $du/dx$  — градиент скорости движения жидкости, называемый также скоростью деформации сдвига.

Жидкости, течение которых подчиняется уравнению (12.1), называются ньютоновскими. Для многих жидкостей, в частности крови, уравнение (12.1) не соблюдается. Действительно, при формальном расчете по этому уравнению вязкость крови, называемая *эффективной*, резко падает

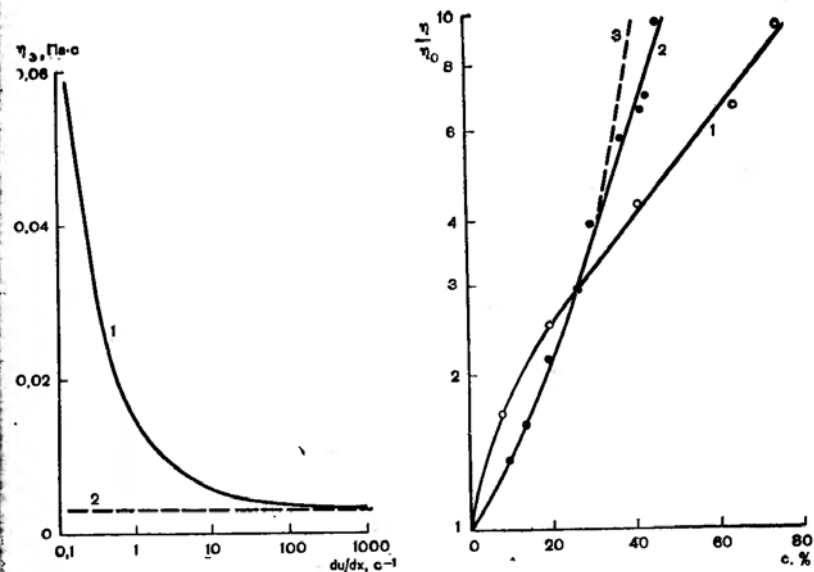


Рис. 95. Эффективная вязкость ( $\eta_e$ ) крови человека (1) и вязкость некоторой ньютоновской жидкости (2) при разных скоростях деформации сдвига.

Величины скорости сдвига  $du/dx$  представлены в логарифмическом масштабе. Вязкость ньютоновской жидкости взята равной предельной вязкости крови.

Рис. 96. Концентрационная зависимость вязкости суспензии эритроцитов собаки в норме (1), жестких эритроцитов (2) и суспензии твердых сферических частиц (3).

$\eta/\eta_0$  — относительная вязкость в логарифмическом масштабе;  $c$  — объемная концентрация (гематокрит). Градиент скорости  $230 \text{ c}^{-1}$ .

с возрастанием скорости сдвига (рис. 95). При скоростях сдвига меньше  $100 \text{ c}^{-1}$  наиболее соответствует опытным данным в случае крови эмпирическое уравнение Кессона:

$$k_c = (\sqrt{\sigma_c} - \sqrt{\sigma_n}) / \sqrt{du/dx}, \quad (12.2)$$

где  $\sigma_n$  — характерная константа (предел текучести): кровь приходит в движение лишь при  $\sigma_c > \sigma_n$ . Значение параметра  $k_c$  для крови  $0,05-0,15 \text{ Па}^{0,5} \cdot \text{c}^{0,5}$ , а  $\sigma_n$  составляет  $0,001-0,005 \text{ Н/м}^2$ . При высоких величинах напряжения сдвига (а значит и при высоких градиентах скорости)  $\sigma_c \gg \sigma_n$ , и уравнение (12.2) превращается в уравнение Ньютона (12.1), где  $\eta = k_c^2$ . Все эти свойства крови обусловлены тем, что при низких скоростях сдвига в ней име-

ются агрегаты эритроцитов в виде монетных столбиков. Эти агрегаты распадаются по мере увеличения скорости сдвига, и поэтому эффективная вязкость снижается и приближается постепенно к определенному пределу (см. рис. 95).

При большой скорости сдвига кровь можно рассматривать просто как суспензию клеток и изучать ее механические свойства на моделях: суспензиях эритроцитов в физиологическом растворе и суспензиях других частиц. Это справедливо для крови, текущей в крупных артериях. Течение крови по таким сосудам зависит от концентрации и физических свойств эритроцитов.

Вязкость суспензии сферических твердых частиц и суспензии эритроцитов сильно увеличивается при повышении концентрации (рис. 96). Концентрационная зависимость вязкости суспензии эритроцитов незначительно отличается от концентрационной зависимости в суспензии сферических частиц, если оболочки эритроцитов сделать жесткими; последнее может быть достигнуто, например, путем фиксации белков выдерживанием эритроцитов в глутаровом альдегиде. Однако кривая для нормальных, нефиксированных эритроцитов заметно отличается от кривой для сферических частиц или «жестких» эритроцитов (см. рис. 96). При этом вязкость суспензии эритроцитов при значении гематокрита, соответствующем нормальной крови, т. е. около 40%, почти вдвое ниже вязкости жестких эритроцитов и тем более ниже вязкости жестких сферических частиц. Благодаря дисковидной форме клеток и эластичности оболочки суспензия эритроцитов обладает сравнительно невысокой вязкостью, что важно для уменьшения нагрузки на сердце, которое прокачивает кровь по кровеносным сосудам. Увеличение жесткости стенок эритроцитов при патологических процессах приводит к возрастанию вязкости крови и к ухудшению кровообращения.

## 12.2. ОБЩИЕ ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ДВИЖЕНИЯ КРОВИ ПО КРОВЕНОСНОМУ РУСЛУ

Примем, что кровеносный сосуд имеет цилиндрическую форму с радиусом просвета (поперечного сечения)  $r$ . Рассмотрим движение цилиндрического элемента крови высотой  $dx$  (рис. 97) (величина  $dx$  — бесконечно малая). Движение этого элемента вдоль длинной оси  $x$  сосуда слева

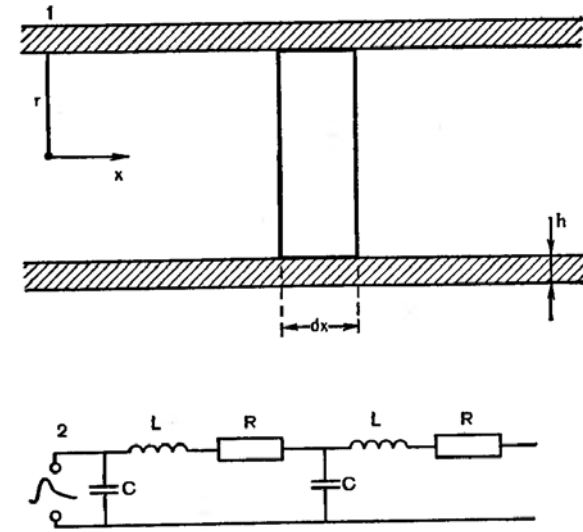


Рис. 97. Схема к выводу уравнений движения крови по кровеносному сосуду (1) и схема электрической линии, эквивалентной наполненному кровью сосуду (2).

$r$  — внутренний радиус сосуда;  $h$  — толщина стенки сосуда;  $x$  — расстояние вдоль продольной оси сосуда;  $R$ ,  $L$ ,  $C$  — активное сопротивление, индуктивность и емкость (соответственно). На вход электрической линии подается импульс, эквивалентный пульсу.

направо вызывается силой, которая обусловлена разностью давлений —  $d_x p$  между правой и левой границей и равна —  $S d_x p$  ( $S = \pi r^2$  — площадь просвета сосуда). В —  $d_x p$  нижний индекс обозначает то, что дифференциал частный, т. е. находится при изменении  $x$  на  $dx$  при постоянных других переменных.

Эта сила создает ускорение массы указанного элемента крови и преодолевает силу вязкостного трения, так что по второму закону Ньютона без учета силы тяжести имеем выражение:

$$-S d_x p = d_x m \frac{d_x \bar{u}}{dt} + d_x f, \quad (12.3)$$

в котором  $\bar{u}$  — средняя (по площади просвета) скорость движения частиц крови;  $d_x \bar{u}/dt$  — ускорение;  $d_x m$  — масса элемента крови, равная  $\rho S dx$  ( $\rho$  — плотность крови;  $S dx$  — объем элемента крови).

Будем считать, что вязкое движение крови по сосуду подчиняется закону Пуазейля. Тогда

$$d_x f = \frac{8\pi\eta}{S} Q dx, \quad (12.4)$$

где  $\eta$  — вязкость крови.

Величина  $Q = S\bar{v}$  представляет собой объемную скорость кровотока (объемный расход крови), т. е. объем крови, протекающей через просвет сосуда в единицу времени. Подстановка выражения (12.4) в уравнение (12.3), деление уравнения (12.3) на  $dx$  и  $S$  и замена отношений дифференциалов на частные производные ( $\partial p/\partial x$  вместо  $d_x p/dx$  и т. д.) дают:

$$-\frac{\partial p}{\partial x} = \rho \frac{\partial \bar{v}}{\partial t} + \frac{8\pi\eta}{S^2} Q. \quad (12.5)$$

Важно далее, что крупные кровеносные сосуды при изменении внутрисосудистого давления в ходе сокращений сердца способны к быстрой упругой деформации, в результате чего возникает распространяющаяся по сосудам пульсовая волна. Это можно пояснить следующим образом. Под действием сокращения сердца в отрезок сосуда  $dx$  за небольшой период  $dt$  подается порция крови и давление здесь возрастает. Из-за инерции крови это вызовет не ее движение вдоль сосуда, а расширение сосуда и вход крови в образовавшееся расширение. Затем упругая сила стенки сосуда начнет выталкивать избыток крови в соседний участок, где все описанные события повторяются: по сосуду распространяется импульс давления, скорости кровотока и деформации сосудистой стенки. Скорость распространения этого импульса (т. е. пульса) намного выше средней скорости течения крови.

Рассмотрим теперь уравнение, описывающее количество изменения во времени давления крови и скорости кровотока по ходу сосуда в связи с его деформацией. Пусть деформация сосуда происходит за время  $dt$ . Поделив уравнение (10.18) на эту величину, получаем связь между скоростью изменения давления и скоростью деформации сосуда:

$$\frac{d_x p}{dt} = \frac{Ea_0}{2r^2 S} \cdot \frac{d_x S}{dt}, \quad (12.6)$$

где  $E$  — эффективный модуль упругости в рассматриваемый момент времени; нижний индекс  $t$  — частный дифференциал по времени.

Выразим  $d_x S/dt$  через изменение объемной скорости кровотока. Рассмотрим участок сосуда длиной  $dx$ . Объем этого участка за время  $dt$  в результате расширения сосуда

увеличивается на  $d_1 S dx$ . Так как кровь практически несжимаема и течет по сосуду неразрывной струей, указанное изменение объема равно разности между объемом крови  $Q_1 dt$ , втекающей в участок  $dx$ , и объемом крови  $Q_2 dt$ , которая вытекает (т. е. втекает в соседний участок):

$$d_1 S dx = Q_1 dt - Q_2 dt = -d_x Q dt, \quad (12.7)$$

где  $-d_x Q$  — изменение объемной скорости кровотока по длине сосуда. Уравнение (12.7) можно переписать в виде

$$\frac{d_1 S}{dt} = -\frac{d_x Q}{dx}. \quad (12.8)$$

При подстановке (12.8) в (12.6) получаем

$$\frac{\partial p}{\partial t} = -\frac{Ea_0}{2r^2 S} \cdot \frac{\partial Q}{\partial x}. \quad (12.9)$$

Дифференциальные уравнения (12.5) и (12.9) образуют систему, которая отражает взаимную зависимость давления и объемной скорости кровотока и описывает их изменение по ходу сосуда и во времени.

### 12.3. ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ЦЕПЬ КАК АНАЛОГОВАЯ МОДЕЛЬ КРОВЕНОСНОЙ СИСТЕМЫ

Строго говоря, величины параметров  $\eta$ ,  $E$  и тем более  $S$  и  $r$  в уравнениях (12.5) и (12.9) могут изменяться при сдвиге давления в сосуде. Однако при высоких скоростях кровотока, характерных для магистральных сосудов, вязкость крови можно считать постоянной величиной (см. раздел 12.1). При быстрых изменениях давления, характерных для пульса, величина эффективного модуля упругости стенки кровеносных сосудов  $E$  достигает высоких величин (см. гл. 10) и, следовательно,  $S$  изменяется незначительно. Наконец, сам модуль  $E$  можно считать постоянной величиной при небольших изменениях  $S$ . Таким образом, можно принять за постоянные величины все параметры сосуда и крови, стоящие перед производными в выражениях (12.5) и (12.9). Введем новые постоянные:

$$R = 8\pi\eta/S^2; \quad C = 2rS/Eh; \quad L = \rho/S. \quad (12.10)$$

Теперь уравнения (12.5) и (12.9) приобретают простой вид:

$$-\frac{\partial p}{\partial x} = L \frac{\partial Q}{\partial t} + RQ, \quad (12.11)$$

$$\frac{\partial p}{\partial t} = -\frac{1}{C} \frac{\partial Q}{\partial x}. \quad (12.12)$$

Совершенно такой же вид имеют уравнения, известные в электротехнике и описывающие изменение электрического потенциала вдоль электрической цепи ( $\partial\varphi/\partial x$ ) и во времени ( $\partial\varphi/\partial t$ ), если эта электрическая цепь составлена из элементов, имеющих в расчете на единицу длины омическое сопротивление  $R$ , емкость  $C$  и индуктивность  $L$  (см. рис. 97).

Такая, казалось бы, внешняя аналогия полна глубокого физического смысла. Перепад давлений вызывает ток крови, а разность потенциалов — электрический ток. Эластичность стенок делает участок сосуда емкостью для крови, в то время как конденсатор — это емкость для электрических зарядов. Инерция крови лежит в основе ее гидродинамической индуктивности, подобно тому как электромагнитная инерция электронов лежит в основе индуктивности соленоида. Эти аналогии (см. табл. 6) позволяют изучать гидродинамические явления в кровеносной системе, пользуясь аналоговой электрической моделью (см. рис. 97). Распространение импульсов электрического потенциала и тока в такой цепи хорошо изучено в теоретической электротехнике и легко описывается математически. Модель, в которой кровеносный сосуд с кровью представляется в виде совокупности постоянных вязкостных, емкостных и индуктивных гидродинамических элементов, а кровоток описывается системой уравнений (12.11)

Таблица 6

Гидродинамические и электрические аналогии

Гидродинамические величины	Электрические величины
Давление ( $p$ )	Электрический потенциал ( $\varphi$ )
Объемная скорость ( $Q$ )	Электрический ток ( $I$ )
Вязкостное сопротивление ( $R$ )	Омическое (активное) сопротивление ( $R$ )
Инерционная индуктивность ( $L$ )	Электромагнитная индуктивность ( $L$ )
Гидродинамическая емкость ( $C$ )	Электрическая емкость ( $C$ )

и (12.12), называют *линейной моделью с распределенными параметрами*.

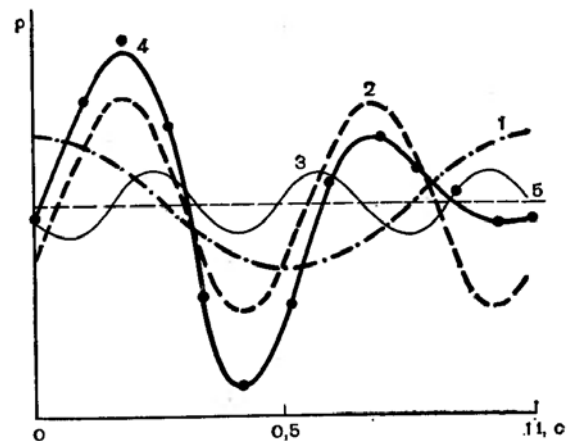


Рис. 98. Разложение импульса давления в бедренной артерии собаки на гармонические составляющие.

1, 2, 3 — гармонические колебания с частотой 1, 2 и 3 Гц; 4 — сумма гармоник (сплошная кривая) и экспериментальные значения давления (кружочки); 5 — постоянная составляющая;  $p$  — давление в относительных единицах;  $t$  — время.

#### 12.4. РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПУЛЬСОВЫХ ВОЛН

Сокращения сердца сопровождаются выбросом крови в кровяное русло, что приводит к периодическим изменениям давления. Эти изменения, как и всякий периодический процесс, могут быть выражены в форме *суммы гармонических колебаний* с частотой  $n\nu_0$ , где  $n$  — натуральные числа, а  $\nu_0$  — частота 1 Гц (разложение сложного колебания на сумму гармонических колебаний называется Фурье-анализом). На рис. 98 в качестве примера показано, что пульс в бедренной артерии собаки хорошо аппроксимируется рядом Фурье, состоящим всего из четырех слагаемых (гармоник). Таким образом, целесообразно сначала рассматривать распространение по сосуду простых гармонических волн, а затем просуммировать их для описания распространения естественных (пульсовых) волн.

Итак, предположим, что давление в точке  $x = 0$  изменяется по гармоническому закону с круговой частотой  $\omega = 2\pi\nu$  ( $\nu$  — частота в герцах):

$$p(0) = p_0 \cos \omega t. \quad (12.13)$$

При выполнении этого условия решение системы уравнений (12.11) и (12.12) (ход этого решения опускаем из-за

его сложности) приводит к уравнению *затухающей волны*:

$$p = A_0 e^{-\alpha x} \cos(\omega t - \beta x), \quad (12.14)$$

причем коэффициенты  $\alpha$  и  $\beta$  связаны с величинами  $R$ ,  $L$  и  $C$  в уравнениях (12.11) и (12.12) соотношениями

$$\beta^2 - \alpha^2 = \omega^2 LC; \quad 2\beta\alpha = \omega RC. \quad (12.15)$$

Величина  $A_0$  в уравнении (12.14) представляет собой максимальную амплитуду колебаний давления и равна  $p$  при  $\cos(\omega t - \beta x) = 1$  и  $x = 0$ . Коэффициент  $\alpha$  показывает, как быстро затухает колебание по ходу сосуда. В самом деле, амплитуда колебаний в точке  $x$  равна  $A_0 e^{-\alpha x}$ , т. е. уменьшается по ходу сосуда по экспоненте, показатель которой пропорционален  $\alpha$ . Величина  $\beta x$  в уравнении (12.14) показывает сдвиг фазы на расстоянии  $x$  от начала отсчета, а коэффициент  $\beta$  связан со скоростью распространения волны  $v$  и, следовательно, с длиной волны  $\lambda$  соотношениями:

$$v = \omega/\beta; \quad \lambda = 2\pi v/\omega = 2\pi/\beta. \quad (12.16)$$

Легко найти величины  $v$  и  $\lambda$ , решив систему уравнений (12.15) и подставив величину  $\beta$  в (12.16); однако выражения получаются громоздкими. Если сопротивление току крови носит в основном вязкостный характер ( $\omega L \ll R$ ), можно получить приближенное выражение для скорости:

$$v \approx \sqrt{2\omega/RC} = \sqrt{\omega E h r / 8\eta}. \quad (12.17)$$

В этом случае, как мы видим, фазовая скорость распространения упругих волн растет с увеличением частоты. Если, наоборот, сопротивление току крови обусловлено в основном ее инерцией ( $\omega L \gg R$ ), что характерно для крупных сосудов, приближенное выражение для скорости будет иным:

$$v \approx 1/\sqrt{LC} = \sqrt{Eh/2\rho r}. \quad (12.18)$$

Скорость распространения упругих волн уже не зависит от частоты, т. е. все гармонические слагаемые сложного колебания (пульса) будут распространяться по сосудам с одинаковой скоростью.

Изучение кровеносных сосудов и кровотока может осуществляться на основании анализа распространения искусственных гармонических волн давления в опытах *in situ*. Эти волны генерируются либо электромагнитным удар-

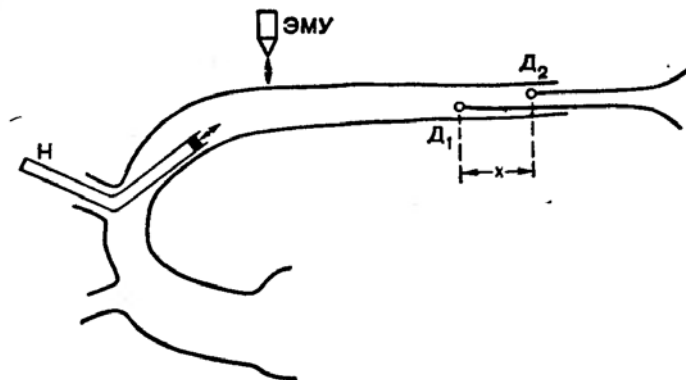


Рис. 99. Схема генерации и регистрации искусственных волн давления в аорте собаки. Н — микронасос; ЭМУ — электромагнитный ударник; Д<sub>1</sub>, Д<sub>2</sub> — датчики давления; x — расстояние между датчиками.

ником, вызывающим периодическое изменение площади просвета и давления в небольшом участке сосуда, либо микронасосом, введенным внутрь сосуда (рис. 99). Амплитуду генерируемой волны давления можно подобрать небольшой, около 100 паскаль; такая волна не влияет на естественное течение крови и четко регистрируется на фоне естественного импульса давления. В сосуд на расстоянии  $x$  друг от друга вводят два датчика давления (малогабаритные манометры). Измеряют амплитуды давления искусственной волны в месте расположения этих датчиков и фазовую скорость распространения волны. В последнем случае измеряют время  $\Delta t$ , за которое данная фаза колебания, например максимум давления, проходит от первого датчика до второго (рис. 100), и находят  $v = x/\Delta t$ .

Эти опыты показали, что фазовая скорость практически не зависит от частоты (см. рис. 100). Это говорит о справедливости уравнения (12.18).

Экспериментально был подтвержден и другой теоретический вывод об экспоненциальном характере затухания волн давления по ходу сосуда. Из уравнения (12.14) следует, что при данном  $x$  амплитуда давления  $A = A_0 e^{-\alpha x}$ , или после логарифмирования

$$\ln(A/A_0) = -\alpha x. \quad (12.19)$$

Это и наблюдалось в опыте: в полулогарифмических координатах амплитуда давления оказалась линейно зависимой от  $x$ .

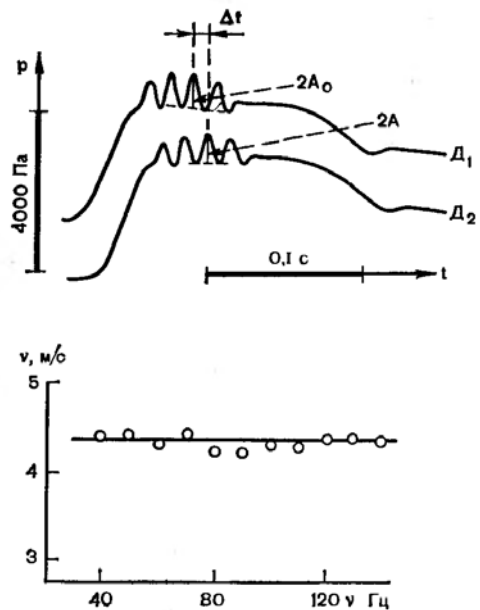


Рис. 100. Схема определения фазовой скорости и коэффициента затухания искусственных волн давления и зависимость фазовой скорости распространения этих волн в аорте собаки от частоты.

$A_0$ ,  $A$  — амплитуда давления в месте расположения датчика  $D_1$  и после прохождения расстояния 4 см (в месте расположения датчика  $D_2$ );  $\Delta t$  — время прохождения максимума волны давления (фазы) от одного до другого датчика.  $v$  — фазовая скорость распространения волны давления;  $\nu$  — частота.

Существует много других подтверждений правильности линейной модели кровотока. Например, согласно уравнению (12.18), скорость распространения волны давления по крупным сосудам должна возрастать с увеличением модуля упругости сосудистой стенки  $E$ . Это подтверждается опытом. Известно, что у человека  $E$  увеличивается с возрастом. Соответственно этому скорость распространения пульсовой волны у пожилых выше, чем в молодом возрасте. Впрочем, известны и отклонения от линейной теории, связанные с тем, что сосудистая стенка не является идеально упругим материалом, а обладает также и вязкостным свойством.

Выводы линейной теории кровотока по упругим сосудам тем не менее могут использоваться для изучения ряда характеристик системы кровообращения. Например, измеряя скорость распространения пульса, можно определить модуль упругости сосудистой стенки  $E$  по уравнению (12.18). Измеряя давление в двух близко расположенных участках сосуда и зная  $R$  и  $L$ , можно рассчитывать по уравнению (12.11) импульс объемного расхода крови.

## 12.5. ПЕРИФЕРИЧЕСКОЕ КРОВООБРАЩЕНИЕ. ЧИСТО РЕЗИСТИВНАЯ МОДЕЛЬ

Для сосудов артериальной системы микроциркуляции  $C \rightarrow 0$  вследствие их низкой способности к расширению при изменении давления, и поэтому уравнение (12.12) теряет смысл. Одновременно для этих же сосудов отношение вязкостного сопротивления к индуктивному  $R/\omega L = 8\pi\eta/\omega\rho S$  [см. уравнения (12.10)] оказывается во много раз выше, чем для артерий, что обусловлено небольшой величиной  $S$  артериол и капилляров по сравнению с артериями. Поэтому первым членом в правой части уравнения (12.11) можно пренебречь, и в итоге кровоток в микрососуде описывается дифференциальным уравнением Пуазейля. Это уравнение при интегрировании в пределах длины сосуда от  $x_1$  до  $x_2$  и давления от  $p_1$  до  $p_2$  переходит в выражение  $p_1 - p_2 = R(x_2 - x_1)$ , или

$$p_1 - p_2 = R_0 Q. \quad (12.20)$$

Уравнение (12.20) аналогично закону Ома для участка электрической цепи с проводником длиной  $(x_2 - x_1)$  и сопротивлением  $R(x_2 - x_1) = R_0$ .

Выражение (12.20) справедливо для системы микрососудов в целом, и при этом  $Q$  — объемная скорость кровотока во всей системе, а  $R_0$  — общее сопротивление системы сосудов. По аналогии с электрическими цепями общее вязкостное сопротивление последовательно соединенных сосудов равно сумме сопротивлений отдельных сосудов. Для системы параллельно соединенных сосудов величина, обратная общему вязкостному сопротивлению (проводимость), равна сумме проводимостей отдельных сосудов.

Описанное представление кровотока в системе микро-

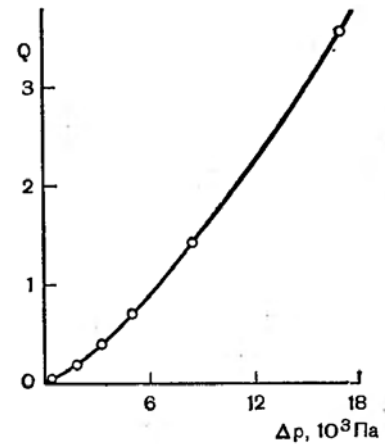


Рис. 101. Зависимость объемного расхода крови в системе микроциркуляции от давления.

$Q$  — объемный расход крови в условных единицах;  $\Delta p$  — разность давлений на входе и выходе системы.

циркуляции называют *чисто резистивной моделью* кровообращения. Выражение (12.20) часто именуют формулой периферического гемодинамического сопротивления.

Экспериментальная зависимость (рис. 101)  $Q$  от  $\Delta p = p_1 - p_2$  для артериальной части системы микрососудов в целом имеет нелинейный характер: кровоток растет по мере увеличения давления более резко, чем это следует по уравнению (12.20). Это объясняется тем, что при повышении  $\Delta p$  величина  $R_0$  снижается. Падение сопротивления при повышенных давлениях может быть обусловлено несколькими причинами, например расширением микрососудов или увеличением количества действующих капилляров, подключающихся параллельно к функционирувавшему сосудам.

### 12.6. СНИЖЕНИЕ ЭКВИВАЛЕНТНОЙ ВЯЗКОСТИ КРОВИ В МЕЛКИХ СОСУДАХ

Суспензия эритроцитов при попадании в сеть мелких сосудов ведет себя совершенно иначе, чем однородная жидкость. Если вязкость гомогенной жидкости остается прежней, то вязкость крови, оцененная по уравнению Пуазейля (12.20) [где  $R$  взято из уравнения (12.10) и называемая *эквивалентной вязкостью*], снижается. Одно из объяснений этого снижения дается теорией *режущего цилиндра*. Если однородную суспензию частиц (эритроцитов) мысленно прорезать полым цилиндром, как это изображено на рис. 102, то его стенка разрежет многие частицы. При протекании суспензии через цилиндр того же диаметра его стенка не разрезает ни одной частицы. Следовательно, там, где внутренняя часть цилиндра соприкасается с суспензией, концентрация частиц в суспензии равна нулю. Концентрация частиц (начиная от стенки) возрастает до тех пор, пока расстояние от стенки цилиндра не становится равным диаметру частиц (см. рис. 102). Поскольку вязкость увеличивается с концентрацией частиц в суспензии, очевидно, что она возрастает по мере удаления от стенки цилиндра. Примем для простоты, что жидкость в цилиндре состоит из двух частей: чистой дисперсионной среды (плазмы крови) у стенки и однородной суспензии (самой крови) в центре. Расчеты показывают, что радиус «сердцевины», которую образует такая однородная суспензия, равен  $r - 0,76r_0$ , где  $r$  — радиус цилиндра, а  $r_0$  — радиус сферической частицы в суспензии. Чем меньше ра-

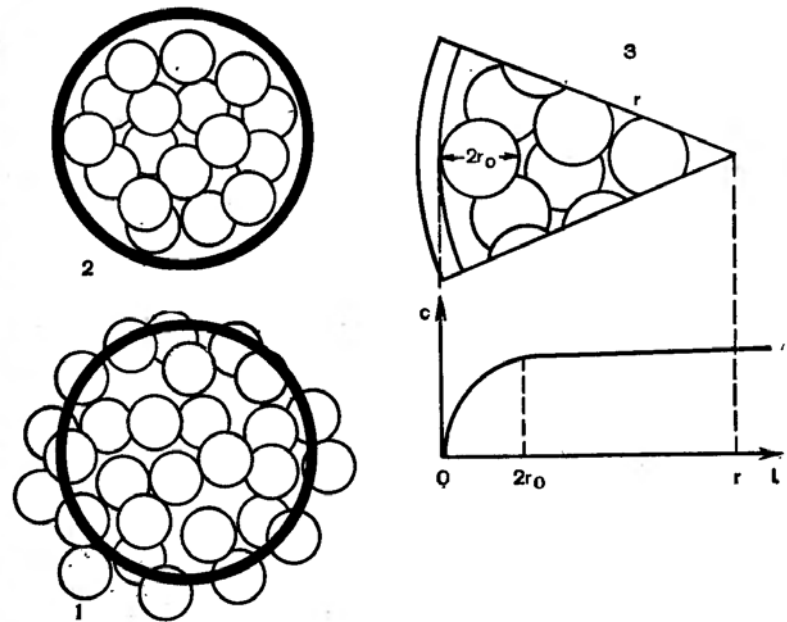


Рис. 102. Распределение сферических частиц в сосуде по теории режущего цилиндра.

1 — погружение полого цилиндра в суспензию (цилиндр «разрезает» частицы); 2 — реальное расположение частиц в цилиндре (кровеносном сосуде); 3 — зависимость объемной концентрации ( $c$ ) частиц от расстояния ( $l$ ) вдоль радиуса цилиндра.

диус цилиндра, тем больше относительная толщина слоя ( $0,76r_0/r$ ) дисперсионной среды у стенки. В итоге эффективная вязкость жидкости в цилиндре в целом (в расчете на весь просвет) снижается. Это обстоятельство имеет несомненно очень большое значение для движения крови по системе микроциркуляции, облегчая работу сердца.

Фактически картина движения крови по артериолам и капиллярам сложнее. При уменьшении радиуса просвета сосуда до величины, равной  $1,76r_0$ , радиус сердцевины из суспензии эритроцитов в сосуде становится равным радиусу самих эритроцитов. В таких узких сосудах эритроциты будут двигаться как единое целое в виде монетного столбика (приосевой цепочки). Наблюдения под микроскопом за движением крови по капиллярам показывают, что эритроциты и в самом деле движутся как «монетный столбик», оставляя свободным пристеночный слой плаз-



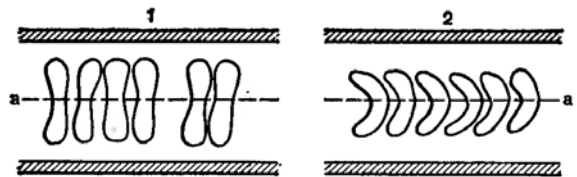


Рис. 103. Приосевая цепочка эритроцитов в капилляре при низкой (1) и высокой (2) скорости кровотока.  
а — ось сосуда.

мы крови (рис. 103) (этот слой может быть и несколько меньше радиуса эритроцита).

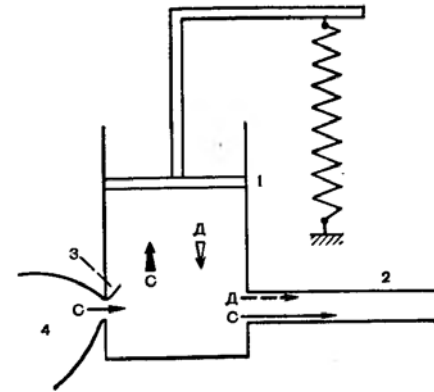
Большое значение имеют также форма и гибкость эритроцитов. Увеличение скорости движения эритроцитов приводит к их деформации и возрастанию толщины пристеночного слоя (рис. 103), что, как говорилось, снижает сопротивление движению (эффективную вязкость). Это одна из причин того, что эластичность стенки эритроцитов и форма клеток очень важны для движения крови именно по капиллярам.

### 12.7. ЛИНЕЙНАЯ МОДЕЛЬ С СОСРЕДОТОЧЕННЫМИ ПАРАМЕТРАМИ. УДАРНЫЙ ОБЪЕМ КРОВИ

Моделирование работы кровеносной системы проще всего осуществить, объединив каждую совокупность сосудов данного типа в один гидродинамический элемент. В модели О. Франка, созданной в 1899 г., система крупных сосудов артериальной части большого круга кровообращения моделируется одной упругой камерой, а система мелких сосудов с вязкостным сопротивлением — жесткой трубкой (рис. 104). Электрическим аналогом этой гидродинамической модели служит цепь, состоящая из параллельно соединенных конденсатора и активного сопротивления. Давление  $p$ , создаваемое сердцем при сокращении, прикладывается сразу ко всем крупным артериям (к единой гидродинамической емкости  $C_0$ ). Теоретический анализ кровотока в такой гемодинамической системе с *сосредоточенными параметрами* приводит к формулам, на основе которых, измеряя показатели кровяного давления, можно рассчитать *ударный объем крови* в большом круге кровообращения.

Рис. 104. Гидродинамическая модель с сосредоточенными параметрами, описывающая артериальную часть большого круга кровообращения.

1 — упругая камера (крупные артерии), представляющая собой цилиндр с поршнем, который соединен с упругой пружиной; 2 — жесткая трубка (периферические сосуды); 3 — клапан; 4 — насос (левый желудочек сердца). Стрелки С и Д показывают направление поступления крови в разные части системы в период систолы и диастолы (соответственно).



Объем ( $Qdt$ ) крови, выходящей из сердца со скоростью  $Q$  за время  $dt$  ( $dt \rightarrow 0$ ), равен сумме объема ( $Q_0dt$ ) крови, протекающей с объемной скоростью  $Q_0$  через жесткую трубку, и изменения объема ( $dV$ ) крови в упругой камере:

$$Qdt = Q_0dt + dV. \quad (12.21)$$

Очевидно, что  $dV = sdl$ , где  $s$  — площадь поверхности поршня упругой камеры;  $dl$  — изменение длины камеры (упругой пружины). Выразив  $dl$  через модуль упругости  $E$  и длину  $l$  упругой камеры (пружины) по формуле (10.8) и учитывая при этом, что в данном случае  $ds$  в формуле (10.8) равна изменению давления  $dp$ , имеем  $dV = sldp/E$ . В результате уравнение (12.21) переходит в выражение

$$Qdt = Q_0dt + C_0dp, \quad (12.22)$$

в котором  $C_0 = s/E$  — гидродинамическая емкость упругой камеры (совокупности крупных сосудов).

По уравнению (12.20) объемная скорость кровотока через периферические сосуды (жесткую трубку)

$$Q_0 = (p - p_b)/R_0, \quad (12.23)$$

где  $p$  — давление в крупных сосудах (в упругой камере);  $p_b$  — венозное давление;  $R_0$  — общее вязкостное сопротивление периферических сосудов.

Из последних двух уравнений при  $p_b = 0$  следует

$$Qdt = pdt/R_0 + C_0dp. \quad (12.24)$$

Запишем определенный интеграл этого выражения в промежутке времени, равном одному периоду пульса  $T_{\Pi}$ .

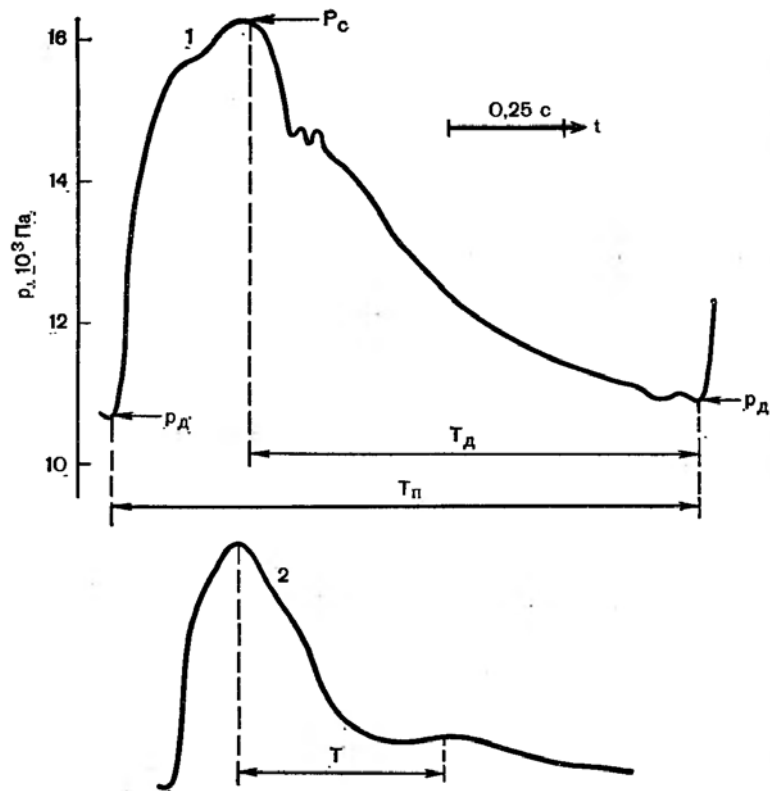


Рис. 105. Определение в модели с сосредоточенными параметрами гидродинамических характеристик артериальной части системы кровообращения по данным измерения пульсовой волны. 1, 2 — пульс сонной и бедренной артерий (соответственно).

т. е. в промежутке между моментами минимального диастолического давления  $p_d$  (рис. 105):

$$\int_0^{T_n} Q dt = \frac{1}{R_0} \int_0^{T_n} p dt + C_0 \int_{p_d}^{p_c} dp. \quad (12.25)$$

Второй член правой части уравнения (12.25) равен нулю. Левая часть этого уравнения и есть ударный объем крови ( $V_y$ ), который, как мы видим, может быть найден как площадь под кривой  $p(t)$  за период пульса (см. рис. 105), деленная на вязкостное сопротивление  $R_0$ . Введя параметр среднее давление  $\bar{p}_n$  за период пульса, получаем:

$$V_y = \bar{p}_n T_n / R_0. \quad (12.26)$$

Теперь предстоит найти  $R_0$ . В основе дальнейших рассуждений лежит тот факт, что сердце в основном заканчивает выброс крови к моменту достижения максимального систолического давления ( $p_c$  на рис. 105). Дальнейшее изменение давления до минимального диастолического связано с выходом крови из крупных сосудов (упругой камеры). Таким образом, в период  $T_d$  (см. рис. 105)  $Q = 0$ , и для этого периода уравнение (12.24) приобретает вид  $C_0 dp = -p dt / R_0$ . Проинтегрировав это выражение в пределах давления от  $p_c$  до  $p_d$  для левой части и в промежутке времени от 0 до  $T_d$  для правой части и выразив затем интеграл правой части через среднее давление, как это сделано выше для всего периода пульса, приходим к уравнению

$$C_0 (p_c - p_d) = \bar{p} T_d / R_0, \quad (12.27)$$

где  $\bar{p}$  — среднее давление за период  $T_d$ , приблизительно равное  $\bar{p}_n$  в формуле (12.26).

Емкость  $C_0$  в этом уравнении равна  $Cl_a$ , где  $l_a$  — некая эффективная длина крупных артерий, а  $C$  — их средняя емкость на единицу длины. Величина  $C$  может быть найдена, если известна скорость распространения пульсовых волн  $v$  (сравни уравнения (12.10) и (12.18)):

$$C = S_0 / v^2, \quad (12.28)$$

где  $S_0$  — эффективная площадь поперечного сечения, которую обычно принимают равной площади поперечного сечения восходящей дуги аорты, и определяют по данным рентгенографии.

Сочетание уравнений (12.26), (12.27) и (12.28) позволяет получить выражение для ударного объема крови, которое при  $\bar{p} = \bar{p}_n$  имеет следующий вид:

$$V_y = \frac{k S_0 (p_c - p_d) T_n l_a}{\rho v^2 T_n}, \quad (12.29)$$

где  $k$  — эмпирический коэффициент, близкий к единице, введение которого связано со сделанными упрощениями.

Наибольшая трудность при использовании уравнения (12.29) связана с тем, что эффективная длина артерий  $l_a$  неизвестна. Существует несколько более или менее произвольных методов ее оценки. О. Франк предположил, на-

пример, что  $l_a$  равна половине длины волны основного колебания пульса, т. е. величине  $vT/2$ , где  $T$  — период указанного колебания, определяемого обычно по пульсу в бедренной артерии (см. рис. 105). Другие исследователи делают иные допущения. Но если даже параметры  $k$  и  $l_a$  неизвестны, уравнение (12.29) дает возможность определять изменения ударного объема крови у данного испытуемого, так как  $k$ ,  $l_a$  и даже  $S_0$  и  $\rho$  при этом обычно меняются незначительно.

## Глава 13

### БИОФИЗИКА РЕЦЕПЦИИ

#### 13.1. БИОФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЗРЕНИЯ

Свет, попавший в глаз, фокусируется при помощи хрусталика на слой светочувствительных клеток сетчатки — палочках и колбочках. Палочки располагаются по всей поверхности полусферической сетчатки и отвечают за черно-белое или сумеречное зрение, их примерно 125 млн. Колбочек значительно меньше (около 6,5 млн.), они в основном сконцентрированы в центральной части сетчатки и отвечают при достаточно ярком освещении за восприятие цвета.

Строение сетчатки человека и позвоночных животных может показаться парадоксальным, так как светочувствительные клетки находятся в заднем слое сетчатки. Прежде чем свет попадет на них, он должен пройти через несколько слоев нервных клеток. Мало того, сами палочки и колбочки ориентированы к свету своим внутренним сегментом, не содержащим зрительного пигмента (рис. 106). Однако такая организация не снижает существенно чувствительности глаза к свету, так как нервные клетки и внутренние сегменты самих светочувствительных клеток прозрачны для видимого света.

*Абсолютный порог* чувствительности зрения человека (т. е. минимальная еще обнаруживаемая величина яркости светового пятна при отсутствии светового фона и в условиях полной темновой адаптации) равен  $2,1 - 5,7 \times 10^{-17}$  Дж на поверхности роговицы глаза, что соответствует 58—148 квантам сине-зеленого света. Из них только 5—15 квантов поглощаются молекулами зрительного пигмента в палочках сетчатки, а остальные «теряются».

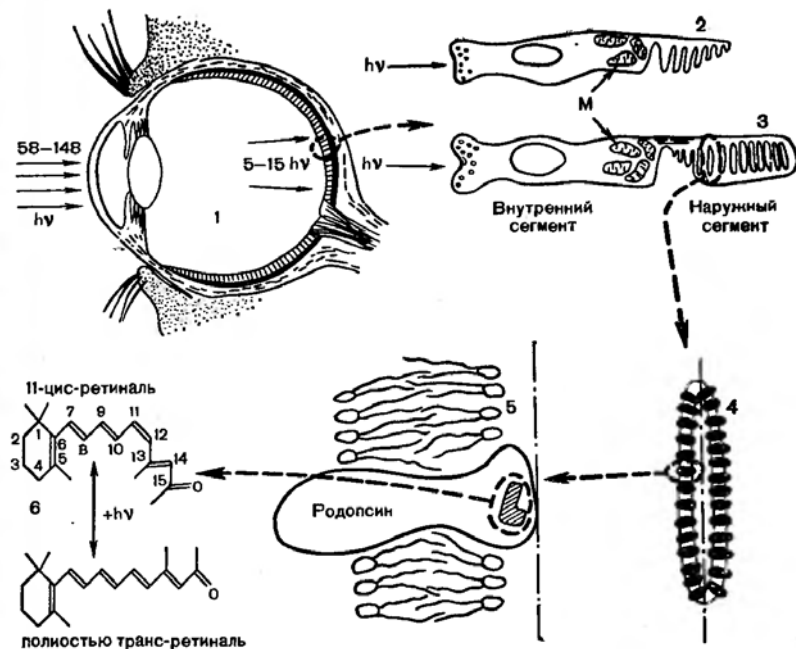


Рис. 106. Структура органа зрения.

1 — разрез глаза; 2 — колбочки; 3 — палочки (M — скопление митохондрий); 4 — диск наружного сегмента палочки; 5 — фрагмент мембраны диска со встроенной в нее молекулой родопсина; 6 — хромофорная группировка родопсина — ретиналь в 11-цис- и полностью транс-конформациях.

Около 4% света отражается от роговицы, около 50% поглощается оптическими средами глаза. 80—85% света, дошедшего до сетчатки, проходит сквозь нее и поглощается в клетках пигментного эпителия. Благодаря пигментному эпителию, подстилающему сетчатку, резко уменьшается количество отраженного и рассеянного от задней стенки глаза света и тем самым улучшается острота зрения. Если наблюдаемое испытуемым пятно находится на освещенном фоне, то минимальную еще обнаруживаемую разность интенсивностей  $dI$  пятна ( $I + dI$ ) и фона ( $I$ ) называют *разностным порогом*. Отношение разностного порога к яркости фона называют *дифференциальным порогом*. Дифференциальный порог, согласно *закону Вебера — Фехнера*, при изменении яркости фона остается постоянным. Обозначим ощущение изменения яркости пятна относительно фона как  $d\xi$ . Тогда закон Вебера — Фехнера можно записать:

$$d\xi = K \frac{dI}{I}, \text{ или } \xi = K \cdot \ln I + C, \quad (13.1)$$

где  $K$  — константа, а  $C$  — константа интегрирования. Это означает, что величина разностного порога ( $dI$ ) растет прямо пропорционально яркости светового фона ( $I$ ).

Рассмотрим строение и функции палочек (см. рис. 106). Зрительный пигмент палочек родопсин сосредоточен в наружных сегментах палочек, где он встроен в зрительные диски. Диски представляют собой замкнутые бимолекулярные липидные мембраны, напоминающие собой расплющенные воздушные шары, уложенные в стопку. Наружный сегмент соединен с внутренним сегментом тонкой соединительной ножкой. Во внутреннем сегменте рядом с ножкой сосредоточено большое количество митохондрий, в нем же располагается ядро клетки. В конце внутреннего сегмента, обращенного к свету, находится синаптический контакт с нервным волокном.

Молекулы родопсина пронизывают липидный слой мембран зрительных дисков. Из-за очень низкой вязкости липидного бислоя (100 мПа·с) молекулы пигмента могут совершать быструю латеральную диффузию, а после поглощения кванта света претерпевать значительные конформационные перестройки. Низкая вязкость липидного слоя обусловлена высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот.

Зрительный пигмент родопсин — сложный белок. Он состоит из белка опсина и хромофорной группы — ретинальдегида или просто ретиналя. В принципе ретиналь может иметь несколько пространственных изомеров, но с опсином связывается только 11-цис-ретиналь.

**Цис-транс-фотоизомеризация ретиналя.** Обе наиболее важные конформации хромофора (11-цис- и полностью — транс-ретиналь) изображены на рис. 106. Молекула ретиналя содержит 6 двойных сопряженных связей, а так как вращение вокруг двойной связи невозможно, то молекула хромофора плоская. Поглощение света ретиналем приводит к  $\pi \rightarrow \pi^*$ -электронному переходу. В органических молекулах  $\pi$ -орбитали (невозбужденное состояние) связывающие, т. е. образование двойной связи сопровождается выделением энергии. Напротив  $\pi^*$ -орбитали (электронно-возбужденное состояние) являются разрыхляющими, т. е. их перекрывание требует затраты энергии. В основном состоянии  $\pi$ -орбитали перекрываются и молекула рети-

Рис. 107. Энергетическая диаграмма конформационных состояний ретиналя до поглощения света ( $S_0$ ) и после перехода в возбужденное состояние ( $S_1^*$  или  $T_1^*$ ). Черными точками показано вырождение возбужденного и основного энергетического состояния ретиналя.

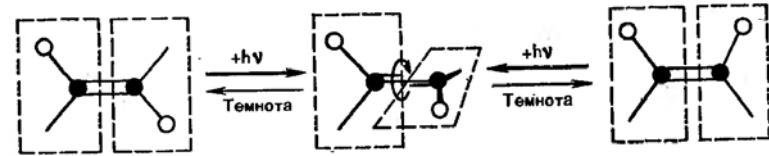
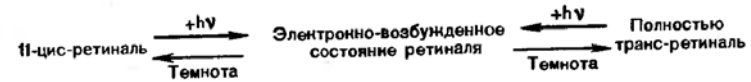
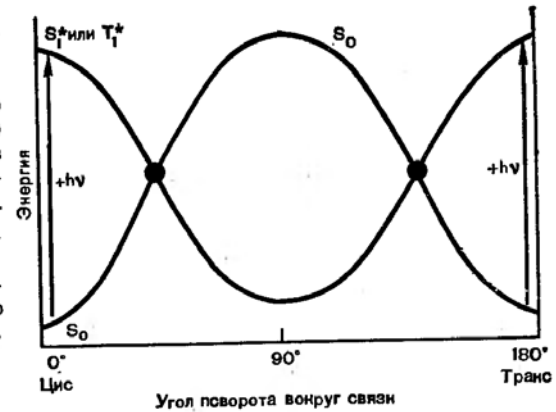


Рис. 108. Цис-транс-изомеризация ретиналя под действием света.

наля плоская. После поглощения фотона  $\pi$ -связь разрывается и две части молекулы ретиналя поворачиваются вокруг  $\sigma$ -связи (рис. 107 и 108). Возвращение молекулы в основное состояние происходит в одной из двух точек вырождения, когда энергии основного и возбужденного состояний равны (см. рис. 107), после чего молекула опять становится плоской. Очевидно, что из такого состояния возможен переход возбужденной молекулы как в цис-, так и в транс-форму. При длительном облучении любой из форм в системе устанавливаются определенные концентрации обоих изомеров. Иными словами, фотореакция цис-транс-изомеризации ретиналя фотообратима, что имеет два важных следствия. Во-первых, под действием света не происходит полного перехода 11-цис- в транс-форму, а во-вторых, реакции транс-цис-изомеризации играют важную роль не только в восприятии света, но и в регенерации зрительного пигмента (см. ниже).

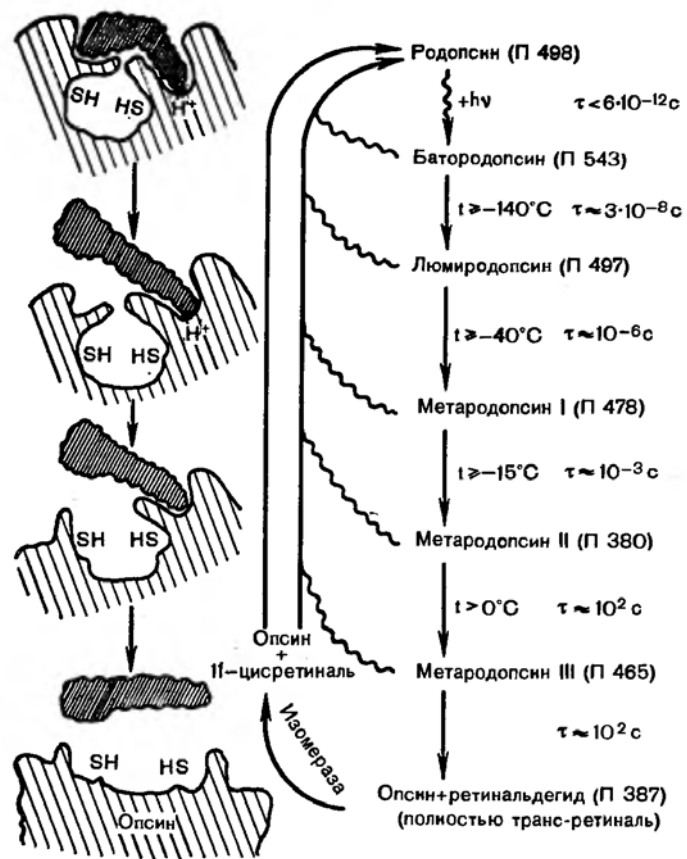


Рис. 109. Инициированные светом конформационные превращения родопсина.

**Фотопревращения родопсина.** 11-Цис-ретиаль точно вписывается в центр связывания молекулы опсина. После фотохимического образования транс-формы стерическое соответствие нарушается, что приводит к целой серии конформационных перестроек в молекуле белка, сопровождающихся изменениями в спектре поглощения зрительного пигмента. Такие перестройки родопсина впервые исследованы Уолдом, получившим Нобелевскую премию в 1966 г. В опытах Уолда родопсин выделяли в темноте, замораживали в жидком азоте при  $-196^\circ$  и облучали светом. При

последующем нагревании образца до определенных температур наблюдались изменения спектров поглощения из-за последовательных переходов родопсина в его производные. Последние получили специальные названия (рис. 109). На этом же рисунке приведены измеренные методом импульсного фотолиза времена конформационных превращений разных форм пигмента при комнатной температуре. При этом только переход родопсин — батородопсин происходит под действием света, а остальные стадии — в темноте.

Каждый конформер содержит ретиаль в транс-форме и под действием квантов света может регенерировать непосредственно в родопсин. Вероятность такой регенерации возрастает с увеличением времени жизни конформера, так как увеличивается вероятность столкновения с ним кванта света. Если родопсин осветить короткой вспышкой света и далее поместить в темноту, то возможность световой регенерации родопсина устраняется. В этом случае примерно через 100 с происходит распад родопсина на опсин и транс-ретиаль. В такой ситуации регенерация родопсина тоже произойдет, но уже при участии ферментов.

Фермент ретинализомераза переводит транс-ретиаль в 11-цис-ретиаль, после чего происходит его присоединение к опсину с образованием родопсина.

**Рецепторные потенциалы.** Каким образом фотопревращения родопсина приводят к электрическому ответу рецепторной клетки? Ответ на этот вопрос позволяют дать данные, полученные методами отведения потенциалов, и сведения по конформационным превращениям родопсина, представленные выше. Регистрация электроретинограмм (экстраклеточное отведение потенциалов от сетчатки) позволила получить рецепторные потенциалы, изображенные на рис. 110. Позднее аналогичные потенциалы непосредственно на цитоплазматической мембране палочек и колбочек были получены микроэлектродными методами. Сразу после освещения палочки короткой вспышкой света наблюдается продолжающийся примерно 1 мс ранний рецепторный потенциал (РРП), амплитуда которого растет с увеличением интенсивности вспышки, но не превышает 5 мВ. Затем, примерно через 1 мс, развивается поздний рецепторный потенциал (ПРП). В отличие от всех других известных клеток на цитоплазматической мембране наружных сегментов палочек потенциал имеет знак «плюс» внут-

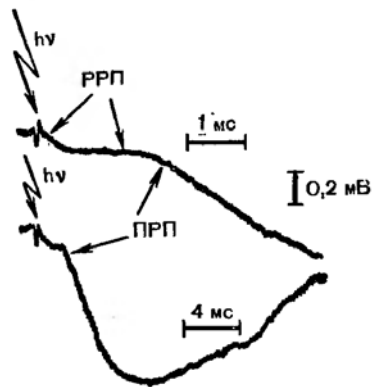


Рис. 110. Ранний рецепторный потенциал (РРП) и возникающий вслед за ним поздний рецепторный потенциал (ЛРП). Измерено методом электроретинграфии на сетчатке кошки.

ри и знак «минус» снаружи. Природа РРП и ЛРП совершенно различна. По-видимому, РРП связан с перемещением молекул родопсина во время конформационных перестроек, вызванных освещением. На его молекуле имеются фиксированные заряды, положение которых относительно бислоя липидов после поглощения квантов света меняется, что и является причиной РРП. При этом за РРП ответственны конформационные превращения родопсина до стадии метародопсин II, т. е. именно они происходят за время, сравнимое с длительностью РРП (см. рис. 109). С момента образования метародопсина II начинаются процессы совершенно иной природы, в которых решающую роль играет движение ионов.

Особенностью наружных сегментов палочек сетчатки является то, что в покое (в темноте) потенциал на их цитоплазматической мембране имеет натриевую природу, в отличие от потенциалов покоя нервных и многих других клеток. Это связано с тем, что в состоянии покоя коэффициент проницаемости для натрия значительно превышает значения таких коэффициентов для других ионов (ср. уравнение 8.18). Благодаря этому по электрохимическому градиенту внутрь движется постоянный поток ионов натрия. Натрий, накапливается в цитоплазме наружного сегмента, а затем через ножку, соединяющую его с внутренним сегментом, пассивно диффундирует во внутренний сегмент. Здесь ионы натрия попадают в целую энергетическую фабрику (скопление митохондрий изображено на рис. 106), где, используя поставляемую митохондриями АТФ, работает фермент АТФ-аза, активно выкачивающий натрий во внешнюю среду. Когда из родопсина под действием света образуется метародопсин II, проницаемость цитоплазматической мембраны для натрия резко снижается, а для

других ионов не меняется. В этих условиях на первое место выходит проницаемость для калия, потенциал на мембране становится калиевой природы и полярность его меняется.

По последним данным, информация о фотовыцветании родопсина в дисках передается натриевым каналам в цитоплазматической мембране при помощи медиаторов. Роль таких медиаторов отводится ионам  $Ca^{2+}$  и циклическим нуклеотидам (цГМФ и в меньшей степени цАМФ).

**Цветовое зрение.** При слабом свете максимум чувствительности глаза человека расположен около 500 нм, что соответствует максимуму поглощения родопсина, содержащегося в палочках. На ярком свете максимум чувствительности смещается к 550 нм, что соответствует максимуму спектра поглощения пигмента в наиболее распространенном типе колбочек. Пигмент колбочек содержит тот же самый 11-цис-ретиналь, как и родопсин, но белковая часть пигмента отличается, поэтому пигменты колбочек носят название йодопсинов.

Спектры поглощения зрительных пигментов измеряют тремя способами: 1) зрительные пигменты экстрагируют из сетчатки мягкими детергентами и затем измеряют суммарный спектр поглощения всех пигментов; 2) проводится микроспектрофотометрия отдельных фоторецепторных клеток *in situ*; 3) у интактных животных можно измерить спектр отражения света от задней стенки глаза до и после засветки мощной вспышкой яркого монохроматического света; последняя приводит к преимущественному выцветанию той формы пигмента, которая поглощает свет данной длины волны. Данные разных методов дополняют друг друга.

При измерении спектров поглощения отдельных колбочек оказалось, что каждая колбочка содержит только один вид йодопсина, а типов колбочек всего три. Йодопсины человека имеют максимумы поглощения при 445, 535 и 570 нм. Поглощение света йодопсинами приводит к появлению РРП в колбочках. Для измерения спектров действия РРП в колбочки сетчатки вводят микроэлектроды и регистрируют РРП, вызываемые короткими яркими вспышками монохроматического света. В сетчатке карпа таким способом обнаружено три типа колбочек с максимумами спектров действия (а следовательно, и спектров поглощения пигментов) при 462, 529 и 611 нм (рис. 111).

При некоторых генетических заболеваниях наруша-

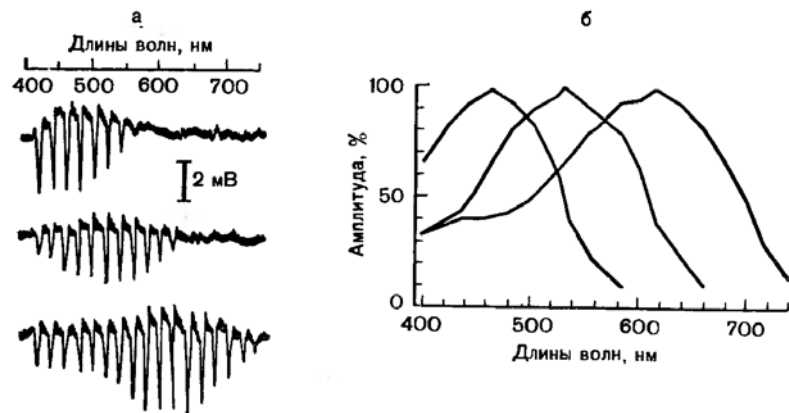


Рис. 111. Три типа колбочек в сетчатке глаза карпа. Ранние рецепторные потенциалы, отводимые микроэлектродами от колбочек карпа, дают три типа спектров действия.

а. Вспышки, индуцировавшие РРП, длились 0,3 с, а последующий темновой период — 0,6 с. Длину волны каждой последующей вспышки меняли на 20 нм, а интенсивность сохраняли постоянной. б. Усредненные по многим измерениям спектры действия РРП трех видов колбочек.

ется синтез белков-йодопсинов, в результате чего не образуется тот или иной пигмент цветового зрения. Человек утрачивает способность различать цвета. Эта болезнь называется дальтонизмом.

### 13.2. БИОФИЗИКА СЛУХА

Рассмотрим последовательность событий при восприятии звука. Звуковая волна, пройдя наружное ухо, наталкивается на тугую натянутую барабанную перепонку, приводя ее в движение (рис. 112). Барабанная перепонка связана с системой слуховых косточек среднего уха, которые передают звуковые колебания во внутреннее ухо — улитку. Слуховые косточки приводят в движение овальное окно, отделяющее перилимфу внутреннего уха от воздушного пространства среднего уха. Движение жидкости в вестибулярном и базилярном каналах внутреннего уха заставляет колебаться базилярную мембрану, следуя частоте и силе звука. Движение базилярной мембраны стимулирует рецепторные клетки, расположенные в кортиевом органе (не показан на рис. 112), в результате появляются потенциалы действия, передаваемые звуковыми слуховыми нервами в кору головного мозга.

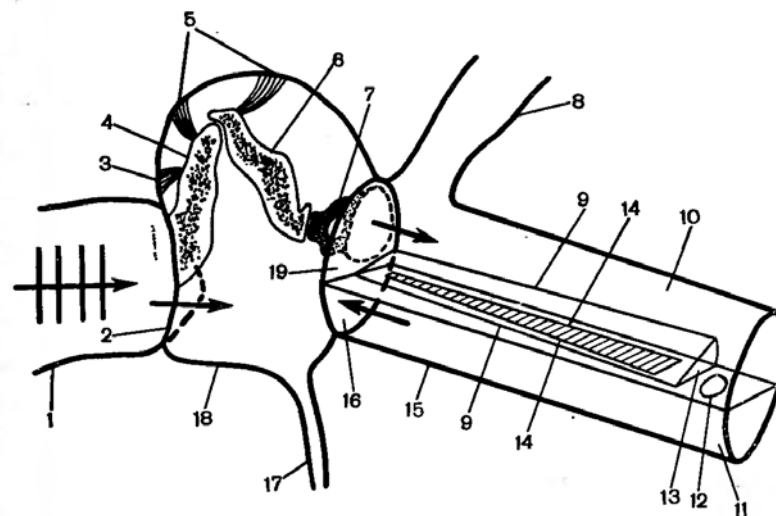


Рис. 112. Схема строения органа слуха человека.

1 — наружный слуховой проход; 2 — барабанная перепонка; 3 — мышца, натягивающая барабанную перепонку; 4 — молоточек; 5 — связки; 6 — наковальня; 7 — стремечко, давящее на овальное окно; 8 — вестибулярная часть внутреннего уха; 9 — мембрана Рейснера; 10, 11 — вестибулярный и барабанный каналы (соответственно), заполненные перилимфой; 12 — гелиотрема; 13 — улитковый канал, заполненный эндолимфой; 14 — базилярная мембрана; 15 — улитка (развернута); 16 — круглое окно внутреннего уха; 17 — евстахиева труба; 18 — среднее ухо; 19 — овальное окно внутреннего уха.

Рассмотрим некоторые понятия, используемые в биоакустике. *Интенсивностью звука* называют количество энергии, проходящей через единицу площади поверхности, перпендикулярно к направлению распространения звуковой волны:

$$I = \frac{E}{S \cdot t}, \quad (13.2)$$

где  $E$  — энергия,  $S$  — площадь,  $t$  — время.

При решении практических задач проще измерить не энергию колебаний, а *звуковое давление* ( $p$ ), регистрируемое при помощи микрофона и выражаемое в Паскалях. Звуковое давление линейно связано с амплитудой звуковых колебаний, и поэтому его квадрат пропорционален энергии звука. При любых двух интенсивностях:

$$I_1/I_2 = E_1/E_2 = p_1^2/p_2^2, \quad (13.3)$$

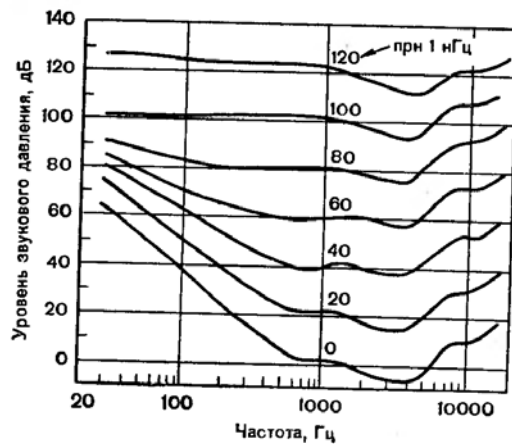


Рис. 113. Кривые равной громкости. Нижняя кривая соответствует порогу слуха чистого тона, верхняя — порогу тактильного ощущения.

Порог слышимости чистого тона при частоте 1 кГц принято считать равным  $2 \cdot 10^{-5}$  Па, хотя могут наблюдаться многократные индивидуальные колебания порога слышимости (в пределах 30 дБ). Кроме того, порог слышимости значительно меняется с частотой (рис. 113). Может также сильно различаться и наивысшая воспринимаемая частота (от 8 до 25 кГц).

По закону Вебера — Фехнера ощущение громкости [так же как и зрительное ощущение, см. (13.1) и (13.2)] связано с создающим его физическим раздражением логарифмической зависимостью. Это стимулировало введение единиц громкости, выражаемых в децибелах:

$$L = 10 \lg(I/I_0) = 20 \lg(p/p_0) \text{ (в децибелах),} \quad (13.4)$$

где  $p_0$  — пороговое значение звукового давления, равное  $2 \cdot 10^{-5}$  Па при частоте звука 1 кГц,  $p$  — регистрируемое значение звукового давления,  $I_0$  — пороговая интенсивность звука. Таким образом, нулевая точка шкалы громкости соответствует 0 дБ при 1 кГц. При других частотах порог слуха отличается от 0 дБ (см. рис. 113).

Наружное ухо человека состоит из ушной раковины и наружного слухового прохода, имеющего длину 2,7 см и напоминающего органную трубу, закрытую с одного конца барабанной перепонкой. Резонанс наблюдается, если длина резонатора составляет  $1/4$  длины волны. Наружный слуховой проход имеет поэтому резонансную частоту около 3 кГц, что соответствует максимальной чувствительности слуха (см. рис. 113). Таким образом прослеживается

связь между геометрией наружного уха и максимальной чувствительностью слуха в области 1—4 кГц.

Среднее ухо является устройством, предназначенным для трансформации звуковых колебаний воздуха в звуковые колебания жидкой среды внутреннего уха, т. е. среды, имеющей значительно большую инерцию, чем воздух. Чтобы привести в движение инерционную жидкость, нужно получить выигрыш в давлении. Это достигается за счет двух факторов. Во-первых, косточки среднего уха (молоточек, наковальня и стремечко) работают как рычаг, обеспечивающий выигрыш в силе в 1,3 раза. Во-вторых, площадь барабанной перепонки человека ( $0,7 \text{ см}^2$ ) значительно больше площади овального окна внутреннего уха ( $0,032 \text{ см}^2$ ) поэтому обе мембраны и связывающие их косточки выполняют функцию трансформатора давления. Очевидно, что сила, действующая на молоточек и обусловленная звуковой волной, равна произведению давления на перепонку ( $p_0$ ) на площадь контакта перепонки с молоточком (примерно  $5,5 \cdot 10^{-5} \text{ м}^2$ ), откуда  $F_c = 5,5 \cdot 10^{-5} \cdot p_0$ . Сила, приложенная к стремечку в отсутствие трения, равна:  $F_c = 1,3 \cdot F_m$ . Давление  $p_{00}$ , оказываемое стремечком на овальное окно при площади контакта  $3,2 \cdot 10^{-6} \text{ м}^2$ , может быть найдено из соотношения:  $p_{00} = F_c / 3,2 \cdot 10^{-6}$ . Теперь легко вычислить усиление давления в отсутствие сил трения:  $p_{00}/p_0 = 22$ . Бекеша экспериментально измерил эту величину и получил усиление давления в 17 раз (или на 25 дБ).

Другой важной функцией среднего уха является защита внутреннего уха от чрезмерных механических нагрузок при воздействии очень громких звуков. Это достигается за счет изменения характера колебаний стремечка в зависимости от силы звука. При пороговых значениях звукового давления стремечко колеблется как поршень. Абсолютные значения смещения очень малы и повторяют движения барабанной перепонки. Для барабанной перепонки величину смещения легко рассчитать. Толщина барабанной перепонки очень мала по сравнению с длиной звуковых волн и скорость ее перемещения совпадает со скоростью частиц в плоской волне в воздухе. Средняя скорость смещения частиц в волне ( $v$ ) связана со значением звукового давления ( $p$ ), скоростью распространения волны ( $c$ ) и плотностью воздуха ( $\rho$ ) выражением:

$$v = p / (\rho \cdot c) \quad (13.5)$$



В свою очередь скорость смещения связана с амплитудой смещения ( $l$ ) выражением:

$$l = v/2\pi\nu, \quad (13.6)$$

где  $\nu$  — частота звуковой волны.

Подставив в (13.5) численные значения  $\rho = 1,3 \text{ кг/м}^3$ ,  $c = 3,4 \cdot 10^3 \text{ м/с}$  и порогового значения звукового давления  $p_0 = 2 \cdot 10^{-5} \text{ Па}$ , получим скорость смещения перепонки  $v = 5 \cdot 10^{-8} \text{ м/с}$ . Отсюда смещение ( $l$ ) перепонки при пороговом звуковом давлении равно  $10^{-11} \text{ м}$ . Это смещение меньше радиуса атома. Если силу звука увеличить до 130 дБ, то появляется ощущение боли, а при 155—160 дБ барабанная перепонка разрушается. Если  $l = 160 \text{ дБ}$ , то  $p \approx 20 \text{ гПа}$  (среднее атмосферное давление равно примерно 1000 гПа). Расчет показывает, что смещения барабанной перепонки при этом достигают 1 мм.

Если при низких значениях звукового давления поршневобразные смещения стремечка практически повторяют движения барабанной перепонки, то при возрастании силы звука характер колебаний стремечка меняется. При средней силе звука стремечко начинает совершать колебательные движения вокруг вертикальной оси у одного конца овального окна (подобно открываемой и закрываемой двери). А при очень громком звуке стремечко начинает совершать вращательные движения вокруг горизонтальной оси овального окна, так что, когда один конец стремечка вдавливаются в овальное окно, другой движется в противоположную сторону. Таким образом предотвращаются избыточно сильные движения жидкости во внутреннем ухе. Такое изменение характера движений стремечка имеет решающее значение для защиты внутреннего уха от механических повреждений при резких внезапных звуках, например взрывах, когда не успевает осуществиться любой рефлекторный механизм защиты.

*Внутреннее ухо* в отличие от наружного и среднего заполнено жидкостью. Для слуха важна только улитковая часть внутреннего уха, имеющая форму спирали и образующая у человека два с половиной витка (на рис. 112 изображена в развернутом виде). Длина развернутой улитки около 35 мм, а ее объем — около 100 мкл (т. е. равен объему двух капель воды). В улитке располагаются три параллельных наполненных жидкостью канала. Вестибулярный и барабанный каналы заполнены перилимфой и соединены в вершине улитки маленьким отверстием — ге-

ликотремой. Эти два канала отделены друг от друга не сообщающимся с ними улитковым каналом, заполненным эндолимфой и отделенным от вестибулярного канала очень тонкой мембраной Рейснера, а от барабанного канала — базилярной мембраной. На базилярной мембране — кортиев орган (на рис. 112 не показан), содержащий рецепторные клетки и нервные окончания.

Характер колебаний базилярной мембраны зависит от частоты. При очень низких частотах волны давления, передаваемые стремечком от барабанной перепонки, заставляют перилимфу двигаться вперед и назад через геликотрему, вызывая колебания круглого окна (см. рис. 112). Такие низкочастотные колебания почти не приводят в движение базилярную мембрану. При более высоких частотах, например 30 Гц, волны давления из-за инерционности жидкости стремятся распространиться прямо через базилярную мембрану, приводя ее в движение. Базилярная мембрана очень неоднородна по длине. От овального окна к вершине улитки она уширяется и утолщается (ширина растет от 0,04 до 0,5 мм). Рядом со стремечком она уже, легче и имеет примерно в 100 раз большее значение модуля упругости, чем у вершины. Благодаря неоднородным механическим свойствам базилярной мембраны волны разной частоты приводят в движение различные ее участки. Низкие частоты (менее 100 Гц) вызывают колебания наиболее массивной части мембраны около геликотремы. Высокие частоты (8000 и более Гц), наоборот, приводят в движение участок мембраны вблизи овального окна. Для частоты 1600 Гц максимум колебаний лежит около середины улитки. Восприятие звуковых частот определяется локализацией максимальных колебаний базилярной мембраны. Любопытно отметить, что удаление мембраны Рейснера и кортиева органа не сказывается на параметрах колебаний базилярной мембраны. Отсюда был сделан вывод, что вибрации овального окна вызывают механические колебания базилярной мембраны, а остальные структуры, прилегающие к ней, важны для преобразования ее механических колебаний в соответствующие нервные сигналы.

*Нервные импульсы* в слуховом нерве возникают следующим образом. Движения базилярной мембраны вызывают деформацию волосковых клеток, располагающихся в кортиевом органе внутри улиткового канала. Деформация волосковых клеток приводит к частичной деполяризации их цитоплазматических мембран. Эти изменения потенциа-

ла действуют на немиелинизированные дендриты афферентных нейронов, находящихся в контакте с боковой поверхностью и основанием волосковых клеток. В результате возбуждаются слуховые нервы. Звук определенной частоты приводит в движение и вызывает нервные потенциалы от определенной, но достаточно протяженной части базилярной мембраны. По-видимому, в центральной нервной системе имеется механизм, обостряющий ощущение звуковой частоты так, что в диапазоне 60—1000 Гц человеческое ухо может различать частоты, отличающиеся на 2—3 Гц.

Слуховой аппарат человека исключительно чувствителен. Как отмечалось выше, пороговые колебания барабанной перепонки составляют  $10^{-11}$  м, вызываемые этим колебания базилярной мембраны еще меньше по амплитуде. Неудивительно поэтому, что кортиев орган не имеет кровеносных сосудов, чтобы пульсации кровяного давления не приводили в движение волосковые клетки и не вызвали слуховых ощущений.

Локализация источников звука основана на двух механизмах. Во-первых, при низких частотах ухо способно чутко улавливать разность фаз звуковой волны в левом и правом ухе. Во-вторых, при высоких частотах ухо главным образом реагирует на разность интенсивностей звука, достигшего левого и правого уха. Вокруг головы есть звуковая «тень» и если разница интенсивности достигает 1 дБ, то этого уже достаточно для примерной локализации источников звука. При высоких частотах из-за звуковой «тени» вокруг головы различие в интенсивности звука может достигать 30 дБ, что позволяет локализовать источник с точностью до  $\pm 10^\circ$ . Интересно, что частота 3000 Гц, чувствительнее всего воспринимаемая ухом человека, неоптимальна для осуществления обоих механизмов (по разности фаз и по «тени»), поэтому при этой частоте трудно локализовать источник звука.

## Приложение I

### Некоторые сведения из математики

1. Неопределенный интеграл от дифференциала  $dF(x)$  функции  $F(x)$ :

$$\int dF(x) = F(x) + C,$$

где  $C$  — константа.

2. Неопределенный интеграл от функции  $1/x$ :

$$\int \frac{dx}{x} = \ln |x| + C.$$

3. Неопределенный интеграл вида  $\int \frac{dx}{m+nx}$ , где  $m$  и  $n$  — постоянные величины, находится путем замены переменных:  $m+nx = z$ ,  $dx = dz/n$ .

$$\int \frac{dx}{m+nx} = \frac{1}{n} \int \frac{dz}{z} = \frac{\ln |z|}{n} + C = \frac{\ln |m+nx|}{n} + C.$$

4. Формула Ньютона — Лейбница для нахождения определенных интегралов:

$$\int_a^b f(x) dx = \int_a^b dF(x) = F(b) - F(a),$$

где  $F(x)$  — первообразная функция  $f(x)$ , т. е.  $dF(x)/dx = f(x)$ ;  $a$  и  $b$  — нижний и верхний пределы интегрирования.

5. При  $a < b$  интеграл функции  $f(x)$ , которая положительна в промежутке (интервале) интегрирования, численно равен площади между кривой  $f(x)$  и отрезком оси  $x$  от  $a$  до  $b$ . Если  $f(x)$  отрицательна в промежутке интегрирования, то интеграл по абсолютной величине равен указанной площади и имеет отрицательное значение.

6. Теорема о среднем в интегральном исчислении:

$$\int_a^b f(x) dx = (b-a) f(\epsilon),$$

где  $a \leq \epsilon \leq b$ . Определенный интеграл равен произведению значения подынтегральной функции  $f(\epsilon)$  в некоторой точке  $\epsilon$  интервала интегрирования  $(a, b)$  на длину  $(b-a)$  этого интервала.

Поясним эту теорему для случая:  $a < b$ , функция  $f(x)$  положительна в интервале  $(a, b)$ . Рассмотрим серию прямоугольников с одинаковым основанием  $(b - a)$ , но разной высотой  $f(\epsilon_i)$  и разной площадью  $(b - a)f(\epsilon_i)$  (здесь  $f(\epsilon_i)$  — разные значения подинтегральной функции в интервале интегрирования). Площадь одних из этих прямоугольников будет больше, а других — меньше площади (определенного интеграла), заключенной между кривой  $f(x)$  и отрезком оси  $x$  от  $a$  до  $b$ . В промежутке, очевидно, должен найтись прямоугольник, у которого площадь равна интегралу, а высота есть  $f(\epsilon)$ .

Величина  $f(\epsilon)$  представляет собой среднее значение функции  $f(x)$  в интервале  $(a, b)$ .

7. Если верхним пределом интегрирования является аргумент  $x$ , то определенный интеграл

$$\int_a^x f(x) dx = F(x) - F(a)$$

представляет собой функцию от  $x$ .

8. Уравнение вида

$$Q(y) dy = P(x) dx,$$

где  $Q(y)$  зависит только от  $y$ , а  $P(x)$  — только от  $x$ , называется дифференциальным уравнением первого порядка (содержит дифференциалы только первого порядка) с разделенными переменными. Решение такого уравнения, т. е. зависимость  $y$  от  $x$ , получают путем интегрирования:

$$\int_{y_0}^y Q_y dy = \int_{x_0}^x P(x) dx,$$

где значение аргумента  $x_0$  и соответствующее ему значение функции  $y_0$ , используемых как нижние пределы, определяются особыми условиями решаемой задачи.

9. Разложение в бесконечный ряд некоторых показательных функций:

$$e^x = 1 + \frac{x}{1!} + \frac{x^2}{2!} + \frac{x^3}{3!} + \dots,$$

$$e^{-x} = 1 - \frac{x}{1!} + \frac{x^2}{2!} - \frac{x^3}{3!} + \dots,$$

$$10^{-x} = e^{-\ln 10 \cdot x} = 1 - \frac{\ln 10 \cdot x}{1!} + \frac{(\ln 10 \cdot x)^2}{2!} - \frac{(\ln 10 \cdot x)^3}{3!} + \dots$$

10. Математические константы: число  $\pi = 3,14159$ ; основание натуральных логарифмов  $e = 2,7183$ ;  $\ln 2 = 0,6931$ ;  $\ln 10 = 2,3026$ ;  $\lg e = 0,4343$ .

## Приложение 2 Фундаментальные физические постоянные

Название	Обозначение	Значение
1. Скорость света в вакууме	$c$	$2,9979 \cdot 10^8 \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$
2. Элементарный электрический заряд	$e$	$1,6022 \cdot 10^{-19} \text{ А} \cdot \text{с}$
3. Постоянная Планка	$h$	$6,6262 \cdot 10^{-34} \text{ Дж} \cdot \text{с}$
4. Постоянная Больцмана	$k$	$1,3806 \cdot 10^{-23} \text{ Дж} \cdot \text{К}^{-1}$
5. Электрическая постоянная	$\epsilon_0$	$8,8542 \cdot 10^{-12} \text{ А} \cdot \text{с} \cdot (\text{В} \cdot \text{м})^{-1}$
6. Число Авогадро	$N_A$	$6,0222 \cdot 10^{23} \text{ моль}^{-1}$
7. Постоянная Фарадея	$F$	$9,6487 \cdot 10^4 \text{ А} \cdot \text{с} \cdot (\text{г} \cdot \text{экв})^{-1}$
8. Универсальная газовая постоянная	$R$	$8,3143 \text{ Дж} \cdot \text{К}^{-1} \text{ моль}^{-1}$
9. Ускорение свободного падения на Земле (стандартное значение)	$g$	$9,8066 \text{ м} \cdot \text{с}^{-2}$

## Приложение 3 Приставки для обозначения кратных и дольных единиц в системе СИ

Множитель	Приставка	Обозначение	Множитель	Приставка	Обозначение
$10^{12}$	тера	Т	$10^{-2}$	санти	с
$10^9$	гига	Г	$10^{-3}$	милли	м
$10^6$	мега	М	$10^{-6}$	микро	мк
10	кило	к	$10^{-9}$	нано	н
$10^3$	гекто	г	$10^{-12}$	пико	п
10	дека	да	$10^{-15}$	фемто	ф
$10^{-1}$	деци	д	$10^{-18}$	атто	а

## Приложение 4.

Соотношение единиц в различных системах измерений

Длина: 1 ангстрем ( $\text{Å}$ ) =  $10^{-10}$  м

Плоский угол: 1 радиан (рад) =  $360^\circ/2\pi = 57,29578^\circ = 57^\circ 17' 44''$ .

Частота: 1 герц (Гц) =  $1 \text{ с}^{-1}$

Давление: 1 Паскаль (Па) =  $10 \text{ дин} \cdot \text{см}^{-2} = 1 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-2} = 8,2707 \times 10^{-2} \text{ мм рт. ст. при } 0^\circ \text{ С} = 0,9870 \text{ атм}$

Динамическая вязкость: 1 пуаз (П) =  $1 \text{ г} \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{с}^{-1} = 10^{-1} \text{ кг} \times \text{м}^{-1} \cdot \text{с}^{-1} = 10^{-1} \text{ Па} \cdot \text{с}$

Сила: 1 ньютон (Н) =  $10^5 \text{ дин} = 10^5 \text{ г} \cdot \text{см} \cdot \text{с}^{-2}$

Работа и энергия: 1 джоуль (Дж) =  $10^7 \text{ эрг} = 10^7 \text{ дин} \cdot \text{см} = 10^7 \text{ г} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{с}^{-2}$

1 килокалория (ккал) =  $4,1868 \cdot 10^3 \text{ Дж}$

1 электронвольт (эВ) =  $1,6022 \cdot 10^{-19} \text{ Дж}$

Мощность: 1 ватт (Вт) =  $10^7 \text{ эрг} \cdot \text{с}^{-1} = 1 \text{ Дж} \cdot \text{с}^{-1} = 1 \text{ кг} \cdot \text{м}^2 \cdot \text{с}^{-3}$

Температура:  $t^\circ \text{ С} = (t + 273,15) \text{ К}$

## ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Агрегация белков 78  
 Активность электрическая нейронов 186, 191  
 Актин 217  
 Акцептор квантов 56  
 Альвеола 206, 209  
 — геометрическая стабильность 210  
 — механическая нестабильность 209  
 — поверхностное натяжение на границе с легочным газом 206  
 — стабилизация путем изменения поверхностного натяжения 210  
 — — роль сурфактанта 210  
 — тканевая стабилизация 210  
 Анализ рентгеноструктурный 7  
 — спектральный 7  
 — с помощью ингибиторов 59  
 Анемия гемолитическая 85  
 — серповидноклеточная 86  
 Антаминд 70  
 Антибиотики ионофорные 129  
 Антиоксиданты 32, 44, 45, 59  
 Адеозинтрифосфорная кислота (АТФ) 18, 20  
 АТФ-азы транспортные 28, 122, 123, 129—135, 143, 149, 154, 156
- Белки мембран 96, 97  
 — — интегральные 97  
 — — периферические 97  
 Бернштейна гипотеза 158  
 Биомеханика 5  
 Биомолекулярный фосфолипидный слой 96, 97  
 Биофизика квантовая 30  
 — медицинская 5  
 — молекулярная 63  
 Биоэнергетика 26  
 Бислой липидный 97, 99, 101, 103, 107, 112, 250 (см. *Биомолекулярный фосфолипидный слой*)  
 — — локализация молекулы холестерина 120  
 — — проницаемость 112  
 — — состоянии 101, 103, 106  
 Бислойные фосфолипидные мембраны (БЛМ) 100  
 Больцмана распределение 15, 72  
 Бора эффект 70  
 Бугера—Ламберта—Бера закон 34, 53
- Вавилова закон 37  
 Ваят—Гоффа уравнение 16, 105  
 Вебера—Фехнера закон 245, 246, 254  
 Везикулы фосфолипидные (липосомы) 97
- Вектор сердца электрический 179  
 Вероятность термодинамическая 9, 10  
 Весы Ленгмюра 99  
 Витамин Е 30, 32, 40, 44, 45, 59  
 Вода 72, 75  
 — водородная связь 73, 74  
 — кластеры 73, 74  
 — примембранный слой 124, 125, 127  
 — структура 72—75  
 Водородная связь 65, 68, 71—73, 83  
 Возбужденное состояние молекул 33  
 — — синглетное 33, 62  
 — — триплетное 33, 39, 59, 62  
 Волна давления в кровеносных сосудах 230  
 — искусственная, гармоническая 234—236  
 — коэффициент затухания 234  
 — сдвиг фазы 234  
 — скорость распространения 234, 236, 243  
 Время релаксации 197  
 Вязкость 194, 226, 227  
 — крови 226—228, 231, 238, 240  
 — липопротеидов 114  
 — мембраны 40, 113, 115, 116—118, 120, 246  
 — суспензии эритроцитов 228
- Гемоглобин 83  
 — А 86  
 — S 86, 87  
 — структурные изменения 84  
 — Хаммерсмит 85  
 — Хирсима 85  
 Гемоглобинопатии 85—88  
 Гемодинамические процессы 226  
 Генератор токовый 173  
 — электрический эквивалентный 173  
 — — — дипольный сердца 177, 178  
 — — — многодипольный головного мозга 191  
 — — — сердца 180, 181  
 Генез ЭКГ 181  
 Гидрофобные взаимодействия 68, 75, 78, 85—87, 115  
 Гипотеза Бернштейна 150  
 — Муллинза 128  
 — Хилле 129  
 Гиромагнитное отношение 47  
 Гистерезис при растяжении легких 207  
 Гликокаликс 97  
 Гольдмана уравнение 153—155, 161  
 Градиент осмотического давления 144  
 Градуальная электрическая активность пирамидных нейронов 186  
 — корреляция 192

— пространственная структура электрического поля 188, 189  
 График Лайнувера—Берка 140  
 Гун—Чепмена уравнение 108  
 Гука закон 194, 199, 203

Давление транспульмональное 205, 206, 209  
 Дальтонизм 252  
 Дебая радиус экранировки 111  
 Деполаризация мембраны 160  
 Деформация 193  
 — костей, пьезоэлектрический эффект 200  
 — кровеносных сосудов 202, 230  
 — — — динамическая 204  
 — легких 206, 208  
 — механизм при разной величине удлинения тканей 212  
 — мышцы при разной температуре 198, 212  
 — эритроцитов 228, 240  
 Диполь осциллирующий 70  
 — пирамидного нейрона 187, 188  
 — потенциал электрического поля 175  
 — токовый 174  
 — — дендритный 188  
 — — соматический 187  
 — точечный и конечный 174  
 — эквивалентный, сердца 177, 178  
 — электрический дипольный момент 174  
 Дисперсионные взаимодействия 68, 70  
 Диссипативная функция 25, 26  
 Диффузия 11, 20—22, 120, 126  
 — вращательная в мембранах 117, 118  
 — коэффициент 21, 120, 121, 126  
 — — переносчика веществ в мембранах 139  
 — латеральная в мембранах 120, 121  
 Доннана отношение 149  
 — потенциал 148, 149, 156

Единица кооперативная 104, 105

Жидкости ньютонские 226

Закон Бугера—Ламберта—Бера 34, 53  
 — Вавилова 37, 54  
 — Вебера—Фехнера 245  
 — Гука 194, 199, 203  
 — Лапласа 210  
 — Ньютона 213, 223, 229  
 — Ома 170, 171, 175, 183, 237  
 — Пуазейля 229  
 — Стокса 37  
 — термодинамики 9, 14, 17  
 — Фика 22, 124, 137  
 — фотохимии 53, 54  
 Закономерности движения крови по сосудам 228, 229  
 Заряд импульсный 186  
 Зонды спиновые 103, 115, 118  
 — флуоресцентные 41, 109, 113, 115, 118  
 Зрение 50, 244—252  
 — порог чувствительности 244, 245  
 — цветовое 251, 252

Изменения поверхностного натяжения 210

Измерение констант равновесия 16  
 Импульсы в слуховом нерве 257  
 Инактивация натриевых каналов 163  
 Интеграл неопределенный 259  
 — определенный 241, 260  
 Исследования биофизические 6

Иодосин 251, 252

Калориметрия 9, 16  
 Каналы ионные в мембране 123, 160, 167, 168, 251  
 — активация и инактивация 160—163  
 Каши правило 37  
 Квадруполь токовый 181  
 — пирамидного нейрона 188  
 — потенциал электрического поля 181  
 Кессона уравнение 227  
 Кинетика ионных токов 161  
 Кластеры воды 73, 74, 75  
 Клаузиуса критерий 26  
 Ковалентные связи с белками 60, 61  
 Колебания гармонические 233  
 Коллаген 211  
 Коллапс альвеол 210  
 Комплексы ферментные 18  
 Комплементарность 72  
 Константа(ы) длины нервного волокна 172  
 — математические 260  
 — связывания 78, 81, 129, 131  
 — химического равновесия 15, 16  
 Конформация белков 66, 67, 83—85, 131, 132  
 — жирнокислотных цепей в мембране 102, 103  
 Конформационные переходы 68  
 Концентрирование мочи, осмотическое 145  
 — принцип противотока 145, 146  
 Концепция Волькенштейна 85, 86  
 Кооперативность 81—83  
 — коэффициент Хилла 82  
 — размер кооперативной единицы 104, 106  
 Кортнев орган 257, 258  
 Коэффициент диффузии 21, 120, 126  
 — затухания волны давления в кровеносном сосуде 234, 235  
 — корреляции 192, 193  
 — поглощения молярный 34  
 — проницаемости мембраны 22, 120, 124, 125, 127, 128, 139, 159, 163, 250  
 — распределения 21, 127  
 Кривая Фипера 78  
 Критерий Прнгожина 26  
 Кровообращение периферическое 237

Лайнувера—Берка график 140  
 Ламе уравнение 202, 203  
 Лапласа уравнение 206, 208, 209, 210  
 Легкие ателектатические 208  
 Ленгмюра изотерма 80  
 Лиганды 78, 79  
 Липосомы 97, 101  
 — спектр ЯМР 119  
 — реконструкция  $Ca^{2+}$ -АТФ-азы 130  
 Локализация источников звука 258  
 Люминесценция 30, 33, 36, 37

— время жизни молекулы в возбужденном состоянии 38, 39  
 — интенсивность 37  
 — квантовый выход 39, 54  
 — поляризация 35, 39, 40  
 — регистрация 37  
 — спектр 35  
 — возбуждения 37, 56  
 — тушение 38, 39

**Магнитные моменты (спины) 33, 118**  
 Макросостояние 9, 10  
 Максвелла тело 197  
 Мембрана(ы) биологические 95  
 — апикальная и базальная эпителиоцитов кишечника 137  
 — асимметрия строения 121  
 — бислойная фосфолипидная 97, 100  
 — вязкость 40, 103, 107, 113, 115  
 — емкость электрическая 112, 151, 165, 170  
 — ионная избирательность 128, 129  
 — ионные каналы 123—125, 162—164, 167  
 — конформация жирнокислотных цепей 102, 103  
 — липидная фаза 113  
 — механизм транспорта веществ 121, 122, 129  
 — модели 99—101  
 — окисление липидов 30, 44, 45, 50, 62, 98, 135  
 — переносчики ионов 123, 129, 130, 134  
 — — сахаров и аминокислот 137, 141  
 — плазматические 97  
 — поверхностный заряд 108  
 — подвижность жирнокислотных цепей фосфолипидов 115, 120, 135  
 — — зонда спинного 118, 119  
 — потенциал электрический 14, 136, 153, 154  
 — — межфазный скачок 108, 112  
 — — поверхностный 110, 111  
 — проводимость 163  
 — проницаемость для веществ 22, 108, 128, 154  
 — — ионная 158, 159  
 — — разделение фаз 104  
 — — строение 96  
 — структурные основы функционирования 95  
 — температура фазового перехода 103, 104  
 — электрогенный транспорт ионов 129, 131, 143  
 Метка спинная 115, 131  
 Метод биохимического разделения 46  
 — гистоавтордиографии 46  
 — глубокого замораживания 57  
 — импульсного фотолито 57, 58  
 — исследования хемилюминесцентный 46, 48  
 — моделирования 88  
 — привитой сополимеризации 46  
 — радиоспектрографии 115  
 — спинных зондов 116, 117  
 — — — параметр солубилизации 117  
 — — — упорядоченности 118  
 — электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) 46  
 Механизмы модификации липидов 30  
 Механическая прочность костей 199

— — стенки кровеносных сосудов 201  
 Миеллин 172  
 Микровязкость мембран 113, 117  
 Микрокалориметрия 104  
 Микросостояние 9, 10  
 Миозин 217  
 — — — поперечные мостики 217, 218  
 — — — параметры 225  
 Мицеллы сферические 98  
 Модель биологическая 88  
 — — формализация 91  
 — — Жадина 191  
 — — кровообращения гидродинамическая 226  
 — — аналоговая электрическая цепь 226, 231, 232, 240  
 — — линейная с распределенными параметрами 232  
 — — — с сосредоточенными параметрами 240  
 — — Франка 240  
 — — чисто резистивная 237, 238  
 — математическая 89, 161—167  
 — мембраны 96—101  
 — механическая 194, 195  
 — Миллера и Гезеловитца 182  
 — предметная 84  
 — фармакокинетическая 90—92  
 — физическая 88  
 — Хилла 81  
 Модуль упругости 194  
 — — волокон коллагена и эластина 211  
 — — динамический 204, 205  
 — — костей 199  
 — — мышцы в зависимости от длины 197, 198  
 — — статический 205  
 — — стенки кровеносных сосудов 198, 203, 204, 231, 236  
 — — эффективный (тангенциальный) 197, 198, 204, 230  
 Молекулы стереоспецифические 64  
 — фосфолипидов 97  
 — — амфифильность 97  
 Момент дипольный электрический 174, 176  
 Монослой липидов 99  
 Монохроматор 37  
 Муллиниза гипотеза 128

**Напряжение механическое 194**  
 — при сокращении мышечного волокна 223, 224  
 — — релаксация 195  
 — — — в мышцах 197  
 — — тангенциальное 202, 203  
 Нарушение миелиновых оболочек 172  
 Насос электрогенный 132, 133  
 — ионный 156  
 Неопределенный интеграл 259  
 Нервный импульс 257  
 Нернста уравнения 15, 20, 150, 151, 153, 155  
 Нернста—Планка электродиффузионное уравнение 24, 124, 126, 159, 162  
 Нити коллагеновые 211  
 — эластиновые 211  
 Ньютона уравнение 226, 227

Оксигенация гемоглобина 83  
 Ома закон 170, 171, 175, 183, 237

Онагера соотношение взаимности 25  
 — уравнения 24, 25  
 Оптическая плотность 34, 35, 37  
 Опыт Уолда 248  
 Орбиталь молекулярная верхняя заполненная 31  
 — — нижняя свободная 31

**Парамагнетизм 41**  
 Параметры биологических систем термодинамические 16  
 — миокарда 181  
 — упорядоченности 118  
 Перенос АТФ 20  
 — заряженных частиц 22, 23  
 — ионов в клетке 129  
 — электрона 31, 32  
 Перехват Ранвье 156, 167, 172  
 Перрена уравнение 40, 113  
 Петли Генле 145  
 Поглощение света 30, 33, 51, 60, 245, 246, 247, 250  
 — — коэффициент молярный 34, 35  
 — — поперечное сечение 34, 52  
 — спектры 34, 36, 37, 52, 248, 249, 251  
 Подвижность биологическая 193  
 — жирнокислотных цепей в мембране 118  
 — зонда спинного 116  
 Ползуемость тканей 195  
 Поляризация флюоресценции 41  
 Поперечный мостик в саркомере 217, 218  
 — — состояния 220, 221, 223  
 — — элементарная сила 221, 225  
 Поперечное сечение фотохимической реакции 52, 53  
 Порфириновое кольцо гема 83  
 Постоянная Больцмана 10, 12  
 Потенциал(ы) действия 156, 157, 163, 166  
 — — возникновение 156, 157  
 — — распространение 169—172  
 — деполяризации нервного волокна 170  
 — дипольный 177  
 — Доннана 148, 149, 156  
 — ионизации 31  
 — межфазный скачок 108, 109  
 — мембранный 15, 23, 29, 134, 149, 153, 159  
 — Нерста 151  
 — покоя 148, 150, 152, 156, 159  
 — поля токового диполя 176, 177  
 — — квадруполя 180, 181  
 — — конечного диполя 176  
 — — униполярный 175  
 — пороговый 160  
 — постсинаптические 186  
 — равновесный 150  
 — рецепторный 249, 250  
 — стационарный Гольдмана—Ходжкина 151  
 — — Гольдмана—Ходжкина—Каца 153  
 — электрический 15, 28, 168  
 — — безразмерный 15, 126, 149  
 — электрогенный 170  
 — электрохимический 13, 14, 23, 28, 29, 122  
 Потоки сопряженные 24  
 Правло Каши 37  
 Превращение энергии в живой клетке

11  
 Предел текучести крови 227  
 Пригожина теорема 26  
 — критерий 26  
 Проницаемость диэлектрическая липидного бислоя 112  
 — мембраны для веществ 108, 154, 251  
 — — коэффициент 22, 124, 125, 250  
 Протонофоры 29  
 Протопорфирин 63  
 Процессы фотобиологические 50  
 Прочность костей механическая 199  
 Псоралеи 61  
 Пуазейля уравнение 237

**Работа механическая 12, 29**  
 — — при сокращения мышцы 214  
 — — легких при выдохе 206, 208  
 — осмотическая 12, 14, 26, 29  
 — химическая 18, 29  
 — фермента 130, 131  
 — электрическая 12, 14, 26  
 Равновесие динамическое 14  
 — доннановское 148  
 Радикал инициальный 115  
 Радиус экранировки Дебая 111  
 Разложение показательных функций в бесконечный ряд 260  
 Распределение Больцмана 15  
 Распространение потенциала сальтоторное 172  
 Растяжение альвеол 209  
 Реакция фотохимическая 52  
 — — поперечное сечение 52, 53  
 Резонанс магнитный ядерный (ЯМР) 115, 118, 119  
 — парамагнитный электронный (ЭПР) 115, 118  
 Рекомбинация перекисных свободных радикалов 48  
 Релаксация напряжения 195, 197  
 Ретикулярный 246  
 — цис-транс-изомеризация 246, 247  
 Родопсин 246, 248

**Саркомер 217**  
 — гексагональная упаковка 217  
 — сила на конце при укорочении 222  
 — скорость укорочения 222  
 — структура 217, 218  
 Свободный радикал 32, 41, 42, 56  
 — — воды 42, 44  
 — — инициальный 115  
 — — методы изучения 46—50  
 — — липидов 44, 45, 48, 50, 59  
 — — при действии УФ- и ионизирующей радиации 42  
 — — хинонов 43  
 Свойства механические крови 226  
 — — мышц и костей 197  
 — — стенки кровеносных сосудов 200  
 Связи водородные 65, 71, 83  
 — ионные 70, 83  
 Связывание лигандов с макромолекулами 78  
 — — кооперативное 81  
 Селективность ионных каналов 167, 188  
 Сетчатка 244, 245  
 — колбочки 244, 251  
 — палочки 244—250  
 — — строение 246, 247

Сила поверхностного натяжения жидкости 206  
Синглетный кислород 59, 62, 63  
Синглетное состояние 62  
Синглетные уровни 33  
Синтез пептидной связи 18  
Синтиций электрический 182  
Система(ы) вязкоупругие 193  
— клетки «энергосопрягающие» 18  
— термодинамическая 8  
Скэтчарда координаты 80  
Слух 252  
— порог чувствительности 254, 258  
Соединения макроэргические 18  
— фотодинамические 62  
Сократительный аппарат мышечных волокон 217  
Сокращение скелетной мышцы 213  
— изометрическое 217, 219  
— изотоническое 215, 224  
— зависимость скорости от нагрузки 215  
— механизм 219  
— механическая работа 213  
— мощность 214, 215  
— теплопродукция 214, 215  
Сотношения между нагрузкой, скоростью сокращения и общей мощностью мышцы 213  
Сопряжение потоков 25, 26  
— процессов 18, 30  
— транспорта ионов через мембранный потенциал 135  
— химических реакций 19  
Сосуд кровеносный 200, 226, 237  
— вязкостное сопротивление 232, 234, 237, 240, 242  
— вязкостные свойства стенки 201, 236  
— гидродинамическая емкость 232, 237, 240, 241  
— инерционная индуктивность 232, 237  
— механическая прочность стенки 204, 205  
— модуль упругости стенки 204, 205  
— содержание коллагена и эластина 211  
— уравнение деформации 204, 230  
Состояние молекулы возбужденное триплетное 33  
Спектр действия 55  
— люминесценции 37  
— отражения 34, 36  
— поглощения 34, 36  
— фотобиологического действия 52, 54  
Спектрофлуориметр 37  
Стабильность альвеол геометрическая 210  
— механическая 208, 210  
— тканевая 210  
Стационарное приближение Боленштейна—Семенова 92  
— состояние 125, 153, 154  
Степень поляризации флюоресценции 40  
Стереонизомерия 64  
Стереоспецифичность (хиральность) 64, 137  
Стокса закон 37  
Строение сетчатки 244  
Структура биополимеров 64  
— — вторичная 65, 66, 72  
— — первичная 65

— — третичная 66, 67, 83, 84  
— — четвертичная 68, 78, 83, 84  
— органа зрения 245  
Сурфактант 210

Телеграфное уравнение 169, 171  
Тело Максвелла 197  
Теорема уравнение 23, 128  
Теорема о среднем в интегральном исчислении 259  
— Пригожина 26  
Теория атомо-молекулярная 8  
— Митчелла **хемосмотическая** 28, 29  
— мышечного сокращения кинетическая 220, 221  
— режущего цилиндра 238  
— феноменологическая 8  
Термодинамика биологическая 8  
— закон второй 9, 10, 14, 17  
— — первый 9  
— необратимых процессов 19  
— стационарного состояния 24  
Термокинетическая упругая сила 212  
Тетродотоксин 168  
Томаса уравнение 155  
Транспорт веществ 121, 136  
— активный 122, 123, 129  
— — кинетика 133  
— — вторичный 122, 143  
— — ионов натрия в кишечнике 141, 142, 144  
— — — в нефроне 143, 145—147  
— — — электрогенез 143  
— — — механизм 129—132  
— — первичный 122  
— пассивный 122, 123, 127  
— сопряженный 122, 135, 141  
— транспителлиальный 137  
— — аминокислот и сахаров в кишечнике 137, 141  
— — воды 144  
— — ионов хлора 145  
— — максимальная скорость 141  
— — эффект насыщения 137  
Транспителлиальная разность потенциалов 143

Ударный объем крови 240  
— формула для определения 243  
Ультрафиолетовое излучение 44, 51, 52, 59, 60  
— — инактивация натриевого канала нервного волокна 167  
Униполярный ток 174, 175  
— потенциал электрического поля 175  
Упругая сила 194, 212  
— — термокнетическая 212  
Уравнение Больцмана 72  
— Вант-Гоффа 16, 105  
— Гольдмана 153—155, 161  
— Гун—Чепмеша 108  
— затухающей волны 234  
— Кессона 227  
— константы химического равновесия 15  
— Ламе 202, 203  
— Лапласа 206, 208, 209  
— Михаэлиса—Ментен 140  
— Нернста 15, 20, 150, 151, 153, 155  
— Нернста—Планка 24, 124, 126, 159, 162

— Ньютона 227  
— Онзагера 25  
— Перрена 113  
— Пуазейля 237  
— телеграфное (кабельное) 169, 171  
— Теорелла 23, 128  
— Томаса 155  
— Фика 21  
— Хилла 82, 214, 215, 224, 225  
— Ходжкина—Хаксли 162, 166, 167, 169  
— Штерна—Фольмера 39  
Ухо 252  
— внутреннее 256, 257  
— — мембрана базиллярная 257  
— — — Рейснера 257  
— наружное 254  
— среднее 255, 255

Фазовые переходы в липидном бислое 101, 104, 106  
Фишера кривая 77, 78  
Флюоресценция 39, 40, 113  
— поляризация 113  
Форма энергии в биосистемах 12  
Формула Ньютона—Лейбница 259  
— периферического гемодинамического сопротивления 237  
Фосфолипиды 44  
Фосфорилирование окислительное 27  
— хемосмотическая теория 27, 28  
— разобщение теплорегуляторное 29  
Фосфоресценция 39  
Фотоаллергены 62  
Фотоаллергический эффект 50  
Фотониактивация белков 55, 57  
Фотоокисление липидов 59  
Фотопериодизм 50, 51  
Фотопревращения родопсина 248, 249  
Фотореакция цис-транс-изомеризации 247  
Фотосенсибилизаторы 61, 63  
Фотосинтез 11  
Фототерапия 30, 63  
Фототоксические эффекты 50  
Фотохимические реакции 60, 61, 248  
— — квантовый выход 53, 54  
— — при низких температурах 57  
Франка модель 240  
Фурье-анализ 233

Хемилюминесценция 30, 46, 48, 49, 50  
Хемосмотическая теория окислительного фосфорилирования (Митчелла) 27—30  
Хилла график 82  
— коэффициент кооперативности 82  
— модель 81  
— уравнение, кооперативное связывание лигандов 82  
— уравнения сокращения мышцы 214, 215, 217, 224, 225  
Хилле гипотеза 128, 129  
Хиральность 64  
Ходжкина—Хаксли уравнения 162—167, 169  
Хрусталик 244

Цепные реакции 41, 44, 48  
Цианат 87, 88

Число Авогадро 12, 23, 108  
— Фарадея 12, 108, 152, 159

Штерна—Фольмера уравнение 39

Эдема 50, 51, 63  
Эквивалентный электрический генератор 173  
— — — дипольный сердца 177, 178  
— — — многодипольный головного мозга 191  
— — — сердца 181, 186  
— — — мультиполярный сердца 180, 181  
Экимеры 113  
Эластины 211  
Электрическое поле в организме 173  
Электрогенез в клетках 147  
Электрограмма 173  
— желудочков сердца 180, 186  
Электродиффузия 20  
Электрокардиограмма 173  
— векторная, пространственная 179  
— векторная, плоская 180  
— стандартные отведения 184—186  
Электрокардиография векторная 178  
— в диагностике заболеваний сердца 180, 186  
Электрон, заряд 12  
— неспаренный 31, 32, 41, 46, 48, 83  
— — магнитные моменты 46  
— перенос в митохондриях 28—30  
— переходы при возбуждении молекул 33  
— распространение по энергетическим уровням 15, 16  
— сольватированный 43, 58, 59  
— спии 33, 58, 79, 80  
— сродство 32  
— энергетические уровни 31—33  
Электронно-конформационные взаимодействия в макромолекулах 80  
Электронные переходы 30, 32, 37, 49, 257  
Электронный(е) парамагнитный резонанс (ЭПР) 31, 43, 46—48, 50, 115, 118  
— параметр упорядоченности 118  
— спектры 58  
— — спиновых зондов 115—118  
Электроретинограмма 249  
Электрорентгелограмма 173, 190, 192  
— стандартное отклонение 190, 191, 193  
Энергия внутренняя 9, 212  
— — изменение при растяжении мышцы 212  
— гидролиза АТФ 131  
— макроэргических связей 12  
— осмотическая 12, 13  
— свободная 13, 17, 18, 25  
— — изменение при растворении неполярных молекул в воде 71  
— тепловая 9, 10  
— — выделенные при сокращении мышцы 214  
— химическая 12, 13  
— электрическая 12, 13  
Энтальпия 13, 16  
— изменение при плавлении липидов 105  
Энтропия 9, 10, 17, 18  
— изменение при плавлении липидов 105

— при растворении неполярных молекул в воде 75	кости 200
— при растяжении мышцы 212	— экранировки 56
Эритема 50, 52, 55, 56, 59, 62, 63	Эффективность света 55
Эритемная доза 55	
Эффект Бора 70	Явления биомеханические 193
— насыщения 137	Ядерный магнитный резонанс 118
— протнвотока 137	— — спектры липосом 119
— пьезоэлектрический при деформации	— — — химический сдвиг 119

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение . . . . .	5
Глава I. Биологическая термодинамика. <i>А. И. Деев</i> . . . . .	8
1.1 Первый и второй законы термодинамики . . . . .	9
1.2 Превращение энергии в живой клетке . . . . .	11
1.3 Свободная энергия и электрохимический потенциал . . . . .	13
1.4 Второй закон термодинамики и условие равновесия . . . . .	14
1.5 Экспериментальное определение термодинамических параметров биологических систем . . . . .	16
1.6 Второй закон термодинамики и живые организмы . . . . .	17
1.7 «Энергосопрягающие» системы клетки . . . . .	18
1.8 Особенности организмов как термодинамических систем . . . . .	19
1.9 Потоки веществ в результате диффузии и электро-диффузии . . . . .	20
1.10 Термодинамика стационарного состояния . . . . .	24
1.11 Пути преобразования энергии в живой клетке . . . . .	26
Глава 2. Квантовая биофизика. <i>А. Я. Потапенко</i> . . . . .	30
2.1 Электронные переходы в биологически важных молекулах . . . . .	31
2.2 Поглощение света биосистемами . . . . .	33
2.3 Люминесценция биосистем . . . . .	36
2.4 Свободные радикалы . . . . .	41
2.5 Методы изучения свободных радикалов . . . . .	46
2.6 Первичные стадии фотобиологических процессов . . . . .	50
2.7 Спектры фотобиологического действия . . . . .	52
2.8 Изучение продуктов первичных фотобиохимических реакций . . . . .	56
2.9 Первичные фотохимические реакции белков, липидов и нуклеиновых кислот . . . . .	59
2.10 Фотосенсибилизированные фотобиологические процессы . . . . .	60
Глава 3. Молекулярная биофизика. <i>А. И. Деев</i> . . . . .	63
3.1 Общая характеристика структуры биополимеров . . . . .	64
3.2 Виды взаимодействия в макромолекулах . . . . .	69
3.3 Структура воды и гидрофобные взаимодействия . . . . .	72
3.4 Роль гидрофобных взаимодействий в формировании структуры белков . . . . .	75
3.5 Связывание лигандов с макромолекулами . . . . .	78
3.6 Кооперативное связывание лигандов . . . . .	81

3.7 Конформационные изменения молекулы гемоглобина при оксигенации	83
3.8 Гемоглобинопатии — пример молекулярных заболеваний	85
<b>Глава 4. Моделирование биофизических процессов.</b> <i>А. И. Деев</i>	88
4.1 Основные виды моделирования	88
4.2 Фармакокинетическая модель	90
4.3 Математическое моделирование как этап биофизического исследования	95
<b>Глава 5. Структурные основы функционирования мембран</b> <i>Ю. А. Владимиров</i>	95
5.1 Строение биологических мембран	96
5.2 Фазовые переходы в липидном бислое	101
5.3 Физические свойства мембраны как фазы	108
5.4 Измерение подвижности липидных молекул в мембранах методами радиоспектроскопии	115
5.5 Латеральная диффузия липидов и белков в мембранах. Асимметрия мембран	120
<b>Глава 6. Пассивный и активный транспорт веществ через мембранные структуры клеток.</b> <i>Ю. А. Владимиров</i>	121
6.1 Пассивный перенос веществ через мембраны. Диффузия незаряженных молекул	122
6.2 Электродиффузия ионов	126
6.3 Пассивный транспорт веществ через поры	127
6.4 Избирательная проницаемость биомембран	128
6.5 Механизм активного переноса ионов	129
6.6 Кинетика активного транспорта	133
6.7 Сопряженный транспорт ионов	135
<b>Глава 7. Транспорт веществ через эпителий тканей и органов.</b> <i>Д. И. Рошупкин</i>	136
7.1 Роль переносчиков в транспорте сахаров и аминокислот в кишечнике	137
7.2 Кинетика переноса веществ с помощью переносчика через апикальную мембрану эпителиоцитов кишечника	138
7.3 Сопряжение транспорта сахаров и аминокислот с транспортом ионов натрия	141
7.4 Электрогенез при активном транспорте ионов натрия	143
7.5 Транsepителиальный перенос воды. Механизм осмотического концентрирования мочи	144
<b>Глава 8. Механизм электрогенеза в клетках.</b> <i>Ю. А. Владимиров</i>	147
8.1 Доннановское равновесие и потенциал Доннана	148
8.2 Равновесный потенциал	150
8.3 Стационарный потенциал Гольдмана — Ходжкина	151
8.4 Потенциал при работе электрогенной помпы	154
8.5 Потенциал действия	156
8.6 Ионные токи через мембрану	158

8.7 Математическое описание кинетики ионных токов	161
8.8 Селективность ионных каналов	166
8.9 Распространение потенциала действия по нервному волокну	169
<b>Глава 9. Внешние электрические поля тканей и органов.</b> <i>Д. И. Рошупкин</i>	172
9.1 Биофизические принципы исследования электрических полей в организме	173
9.2 Потенциал электрического поля токового униполярного в однородной неограниченной среде	175
9.3 Потенциал электрического поля, создаваемого конечным диполем	175
9.4 Дипольный эквивалентный электрический генератор сердца	177
9.5 Векторная электрокардиография	178
9.6 Мультипольный эквивалентный электрический генератор сердца	180
9.7 Многодипольные эквивалентные электрические генераторы сердца и генез ЭКГ	181
9.8 Внешнее электрическое поле пирамидных нейронов коры головного мозга	186
9.9 Стандартное отклонение электроэнцефалограммы как количественная характеристика электрической активности мозга	190
9.10 Многодипольный эквивалентный электрический генератор головного мозга	191
<b>Глава 10. Биомеханические явления. Пассивные механические свойства мышц, костей, кровеносных сосудов, легких.</b> <i>Д. И. Рошупкин</i>	193
10.1 Механические модели биообъектов	193
10.2 Механические свойства мышц и костей	197
10.3 Механические свойства стенки кровеносных сосудов	200
10.4 Механические процессы в легких	205
10.5 Механическая стабильность альвеол	208
10.6 Молекулярные основы упругих свойств биообъектов	211
<b>Глава 11. Механические явления при сокращении скелетных мышц у позвоночных.</b> <i>Д. И. Рошупкин</i>	213
11.1 Феноменологические соотношения между нагрузкой, скоростью сокращения и общей мощностью мышцы	213
11.2 Молекулярная организация сократительного аппарата мышечных волокон	217
11.3 Скольжение толстых и тонких нитей как основа мышечного сокращения	219
11.4 Кинетическая теория мышечного сокращения	219
<b>Глава 12. Гемодинамические процессы.</b> <i>Д. И. Рошупкин</i>	225
12.1 Механические свойства крови	226
12.2 Общие физико-математические закономерности движения крови по кровеносному руслу	228
12.3 Электрическая цепь как аналоговая модель кровеносной системы	231



12.4 Распространение пульсовых волн . . . . .	233
12.5 Периферическое кровообращение. Чисто резистивная модель . . . . .	237
12.6 Снижение эквивалентной вязкости крови в мелких сосудах . . . . .	238
12.7 Линейная модель с сосредоточенными параметрами. Ударный объем крови . . . . .	240
<b>Глава 13. Биофизика рецепции. А. Я. Потапенко . . . . .</b>	<b>244</b>
13.1 Биофизические основы зрения . . . . .	244
13.2 Биофизика слуха . . . . .	252
Приложение 1. Некоторые сведения из математики . . . . .	259
Приложение 2. Фундаментальные физические постоянные . . . . .	261
Приложение 3. Приставки для обозначения кратных и дольных единиц в системе СИ . . . . .	261
Приложение 4. Соотношение единиц в различных системах измерений . . . . .	261
Предметный указатель . . . . .	262

**Юрий Андреевич Владимиров, Дмитрий Иванович Рощупкин,  
Александр Яковлевич Потапенко, Анатолий Иванович Деев**

**БИОФИЗИКА**

Зав. редакцией *С. Д. Крылов*  
 Редактор *Н. В. Соловьева*  
 Редактор издательства *И. Н. Кононова*  
 Художественный редактор *Т. М. Смага*  
 Технический редактор *В. П. Сорокина*  
 Корректор *Л. В. Петрова*

**ИБ № 3335**

Сдано в набор 23.03.82. Подписано к печати 2.11.82. Т-15763. Формат бумаги 84×108<sup>1</sup>/<sub>2</sub>. Бум. кн.-жури. Лит. гарн. Печать высокая. Усл. печ. л. 14,28; Усл. кр. отт. 14,28. Уч.-изд. л. 14,52. Тираж 100000 экз. Заказ 1042. Цена 60 к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина», Москва  
 Петровверигский пер., 6/8.

Ярославский полиграфкомбинат Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательства, полиграфии и книжной торговли.  
 150014, Ярославль, ул. Свободы, 97.

60 коп.

Медицина 1983

Биофизика



УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА  
Для студентов  
медицинских институтов

Ю.А. Владимиров  
Д.И. Рощупкин  
А.Я. Потапенко  
А.И. Деев

# Биофизика