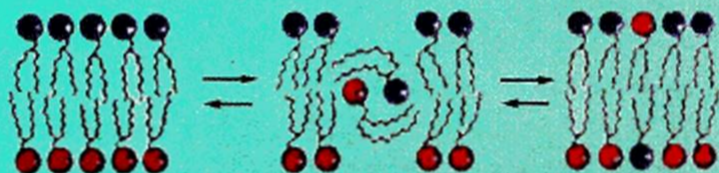


33853 R

ИЛИ МАРИНОВ

БИОФИЗИКА



**УЧЕБНИК ЗА СТУДЕНТИ
ПО МЕДИЦИНА, ФАРМАЦИЯ
И СТОМАТОЛОГИЯ**

София, 2001 г.

МАРИН МАРИНОВ

БИОФИЗИКА

УЧЕБНИК ЗА СТУДЕНТИ
ПО МЕДИЦИНА, ФАРМАЦИЯ
И СТОМАТОЛОГИЯ

София, 2001 г.

СЪДЪРЖАНИЕ

ПРЕДГОВОР.....	3
УВОД.....	5

ГЛАВА I. БИОТЕРМОДИНАМИКА

§ 1. ОСНОВИ НА ТЕРМОДИНАМИКАТА

§ 1.1. Предмет, основни понятия и раздели на термодинамиката.....	9
§ 1.2. Първи принцип на термодинамиката, вътрешна енергия.....	12
§ 1.3. Втори принцип на термодинамиката, ентропия.....	14
§ 1.4. Ентропията като мярка за неподрегеност и вероятност.....	16
§ 1.5. Термодинамични потенциали.....	19

§ 2. ПРЕОБРАЗУВАНЕ НА ЕНЕРГИЯТА В БИОЛОГИЧНИТЕ СИСТЕМИ

§ 2.1. Източници на енергия за живите организми.....	22
§ 2.2. Вигове работа и топлина в живите системи.....	23
§ 2.3. Електрохимичен потенциал, свободна енергия и посока на процесите.....	26
§ 2.4. Валидност на принципите на термодинамиката при живи системи.....	29
§ 2.5. Изменение на ентропията в отворена система.....	32
§ 2.6. Стационарно състояние и термодинамично равновесие.....	33

§ 3. НЕРАВНОВЕСНА ТЕРМОДИНАМИКА

§ 3.1. Поточи и движещи сили при взаимодействие си процеси.....	36
§ 3.2. Критерий за спрягане на потоците.....	38
§ 3.3. Критерий за стационарно състояние близо до равновесното.....	40
§ 3.4. Процеси далече от равновесие, дисипативни структури.....	43

ГЛАВА II. БИОЛОГИЧНИ И МОДЕЛНИ МЕМБРАНИ

§ 4. СЪСТАВ И СТРУКТУРА НА БИОМЕМБРАНИТЕ

§ 4.1. Увод в мембранологията.....	47
• Предмет и значение на биологичната мембранология.....	47
• Видове мембрани.....	48
• Функции на биомембраните.....	49
• Основен химичен състав на биомембраните.....	51
§ 4.2. Молекулен строеж и физикохимични свойства на мембранните липиди.....	51

• <i>Принципен строеж на липидните молекули</i>	51
• <i>Фосфолипиди</i>	53
• <i>Гликолипиди</i>	55
• <i>Холестерол</i>	56
§ 4.3. Мембранни белтъци и гликопротеини.....	57
• <i>Функции на мембранните белтъци</i>	58
• <i>Локализация и свързване на белтъците в мембраната</i>	59
§ 4.4. Мембранни модели и методи за изследване на биомембрани.....	61
• <i>Първи представи и модели</i>	62
• <i>Методи за изследване на биомембрани</i>	64
• <i>Съвременна представа</i>	67
§ 4.5. Еритроцитна мембрана.....	69
• <i>Локализация на мембранните белтъци</i>	70
• <i>Молекулен строеж и функции на някои периферни белтъци и трансмембранни гликопротеини</i>	70

§ 5. МОДЕЛНИ МЕМБРАННИ СТРУКТУРИ

§ 5.1. Липидни асоциати.....	73
• <i>Монослое</i>	73
• <i>Мицели</i>	75
• <i>Бислое</i>	76
§ 5.2. Моделни изкуствени мембрани.....	78
• <i>Бислойни липидни мембрани</i>	78
• <i>Липозоми</i>	81
• <i>Липозомите като лекарствена форма</i>	83

ГЛАВА III. КОНФОРМАЦИОННИ ПРОМЕНИ И ПРЕКИСНО ОКИСЛЕНИЕ В МЕМБРАНИТЕ

§ 6. ПОДВИЖНОСТ НА МЕМБРАННИТЕ КОМПОНЕНТИ И ФАЗОВИ ПРЕХОДИ В ЛИПИДНИЯ БИСЛОЙ

§ 6.1. Латерална дифузия на липиди и белтъци.....	85
• <i>Липиди</i>	85
• <i>Белтъци</i>	86
§ 6.2. Напречна дифузия на липиди.....	87
§ 6.3. Течнокристално състояние на липидния бислой.....	89
§ 6.4. Молекулен механизъм на фазовите преходи.....	92

§ 7. СВОБОДНОРАДИКАЛНО ПРЕКИСНО ОКИСЛЕНИЕ В БИОЛОГИЧНИТЕ МЕМБРАНИ

§ 7.1. Свободни радикали.....	96
§ 7.2. Образуване на свободни радикали в биологични системи.....	97

• <i>Хомолиза на молекули</i>	97
• <i>Реакции на едноелектронен пренос</i>	98
• <i>Действие на екзогенни вещества (ксенобиотици)</i>	98
• <i>Действие на физични фактори</i>	99
§ 7.3. <i>Радикали и активни форми на кислорода</i>	101
• <i>Енергийни състояния на кислородната молекула</i>	101
• <i>Активни форми на кислорода</i>	103
§ 7.4. <i>Прекисно окисление на мембранните липиди</i>	106
§ 7.5. <i>Прекъсване на окислителните вериги на липидите</i>	109
§ 7.6. <i>Последици от прекисното окисление</i>	112
• <i>Увреждания на мембранните компоненти и мембраните</i>	112
• <i>Автоокисление на фармацевтични препарати</i>	115

ГЛАВА IV. ТРАНСПОРТ НА ВЕЩЕСТВА ПРЕЗ МЕМБРАНИ

§ 8. УВОД В МЕМБРАННИЯ ТРАНСПОРТ

§ 8.1. <i>Същност и значение на мембранный транспорт</i>	117
§ 8.2. <i>Видове мембранен транспорт</i>	118
§ 8.3. <i>Свободна дифузия на незаредени частици</i>	121
§ 8.4. <i>Дифузия на йони, уравнение на Нернст-Планк</i>	124

§ 9. НЕСВОБОДНА ДИФУЗИЯ

§ 9.1. <i>Несвободна дифузия през пореста мембрана</i>	126
§ 9.2. <i>Осмоза и филтрация</i>	129
§ 9.3. <i>Диализа и хемодиализа</i>	132
§ 9.4. <i>Обмяна на вода през мембрани и между кръвта и тъканите</i>	133
§ 9.5. <i>Облекчена (улеснена) дифузия</i>	136
§ 9.6. <i>Йонофори</i>	138
• <i>Йонофори подвижни преносители - валиномицин</i>	140
• <i>Йонофори каналобразуватели - грамицидин А</i>	142

§ 10. АКТИВЕН ТРАНСПОРТ НА НАТРИЙ, КАЛИЙ И КАЛЦИЙ

§ 10.1. <i>Натриево-калиева помпа</i>	144
• <i>Значение</i>	144
• <i>Роля на АТФ</i>	145
• <i>Молекулен строеж</i>	146
• <i>Модел на действие</i>	146
§ 10.2. <i>Калциева помпа</i>	148
§ 10.3. <i>Единство на активния и пасивния транспорт</i>	150

ГЛАВА V. БИОЕЛЕКТРИЧНИ ПОТЕНЦИАЛИ

§ 11. ЕЛЕКТРИЧНИ ПОТЕНЦИАЛИ В МОДЕЛНИ СИСТЕМИ

§ 11.1. Дифузионен потенциал.....	152
§ 11.2. Равновесен потенциал.....	154
§ 11.3. Донанов потенциал.....	156

§ 12. ПОТЕНЦИАЛ НА ПОКОЙ

§ 12.1. "Калиева" теория за потенциала на покой.....	158
§ 12.2. Теория на Ходжкин-Кау за стационарния потенциал.....	159
§ 12.3. Компоненти на потенциала на покой.....	161

§ 13. АКЦИОНЕН ПОТЕНЦИАЛ

§ 13.1. Същност, възникване.....	163
§ 13.2. Разпространение.....	166
§ 13.3. Уравнения на Ходжкин-Хъксли за йонните токове.....	168
§ 13.4. Йонни канали.....	171

ГЛАВА VI. ПАСИВНИ ЕЛЕКТРИЧНИ СВОЙСТВА НА КЛЕТКИ И БИОЛОГИЧНИ ТЪКАНИ

§ 14. ПОВЪРХНОСТЕН ЕЛЕКТРИЧЕН ЗАРЯД НА ДИСПЕРГИРАНИ ЧАСТИЦИ, БИМОЛЕКУЛИ И КЛЕТКИ

§ 14.1. Значение и произход на повърхностния електричен заряд на клетките.....	174
§ 14.2. Уравнение на Поасон-Болцман.....	176
§ 14.3. Изменение на потенциала в мембрана и в близост до двете ѝ страни.....	179
§ 14.4. Електрофоретична подвижност.....	180
§ 14.5. Зависимост на електрофоретичната подвижност от киселинността и йонната сила на средата.....	183
§ 14.6. Видове електрофореза.....	185
• <i>Микроелектрофореза</i>	185
• <i>Макроелектрофореза</i>	186

§ 15. ЕЛЕКТРОПРОВОДИМОСТ НА КЛЕТКИ И ТЪКАНИ ЗА ПОСТОЯНЕН ТОК

§ 15.1. Електрични свойства на биологични системи.....	190
§ 15.2. Електричен дипол и диелектрик в електрично поле.....	191
§ 15.3. Видове поляризация на диелектрици и хетерогенни системи.....	194

§ 16. ЕЛЕКТРОПРОВОДИМОСТ НА КЛЕТКИ И ТЪКАНИ ЗА ПРОМЕНЛИВ ТОК

§ 16.1. Основни величини при променливия ток.....	198
• <i>Моментни и ефективни стойности на големината на променливия ток и напрежението.....</i>	198
• <i>Видове съпротивления при променлив ток.....</i>	199
• <i>Мощност, трифазен променлив ток.....</i>	201
§ 16.2. Електропроводимост на клетки и тъкани за променлив ток.....	203
• <i>Импеданс на клетки и тъкани.....</i>	203
• <i>Дисперсия на диелектричната проникваемост.....</i>	204
§ 16.3. Физиологични и патологични промени в електропроводимостта на биологичните тъкани.....	207
§ 16.4. Физични принципи на електробезопасността.....	209

ГЛАВА VII. БИОМЕХАНИКА

§ 17. ПАСИВНИ МЕХАНИЧНИ СВОЙСТВА НА БИОЛОГИЧНИТЕ ТЪКАНИ

§ 17.1. Предмет и значение на биомеханиката.....	213
§ 17.2. Реология на твърдите биоматериали.....	214
• <i>Вискоеластичност.....</i>	215
• <i>Механични модели в реологията.....</i>	216
§ 17.3. Вискоеластични свойства на костите и мускулите.....	217
§ 17.4. Пасивни механични свойства на кръвоносните съдове.....	220
• <i>Уравнение на Ламе.....</i>	220
• <i>Зависимост налягане/обем.....</i>	221
• <i>Пулсова вълна.....</i>	223
§ 17.5. Механика на дишането.....	225

§ 18. ХЕМОРЕОЛОГИЯ

§ 18.1. Реологична характеристика на кръвта.....	228
§ 18.2. Зависимост на вискозитета на кръвта от хематокрита.....	230
§ 18.3. Деформируемост на еритроцитите.....	232
• <i>Геометрични параметри.....</i>	232
• <i>Вискозитет на вътрешното съдържание.....</i>	233
• <i>Вискоеластични свойства на мембраната.....</i>	234
§ 18.4. Зависимост на вискозитета на кръвта от агрегацията на еритроцитите	235

ЛИТЕРАТУРА.....	237
-----------------	-----

Учебникът е включен в Издателския план на Медицинския университет – София за 2001 г. и е одобрен от Министерството на образованието и науката с Протокол № 45 от 26 юни 2001 г.

Копирането на тази книга и на части от нея без писмено разрешение от автора се наказва съгласно закона.

© Марин Иванов Маринов, автор, 2001

БИОФИЗИКА

учебник за студенти

по медицина, фармация и стоматология

Първо издание 2001, донепечатка 2006

Съюз на физиците в България, 2006

ISBN-10: 954-91841-2-9

ISBN-13: 978-954-91841-2-9

ПРЕДГОВОР

Биофизиката влиза в учебните планове на Висшите медицински институти у нас през 1973/74 учебна година. Началото на преподаването ѝ във ВМИ – София е поставено от ст. н. с. Петър Николов и проф. Виктор Врански. През 1980 г. под ръководството на проф. Стоил Стоилов е разработена нова учебна програма по тази дисциплина, която след някои промени през 1988 г. е запазена в общи линии и досега. Под негова редакция през 1985 г. е издаден и първият учебник по биофизика у нас, предназначен за студенти по медицина и стоматология. Въпреки че е изчерпан отдавна и съдържанието му вече не отговаря на лекционните курсове, той все още се препоръчва на студентите като основен източник за тяхната подготовка.

В учебния план на специалност фармация биофизиката първоначално е включена като малка част от учебната дисциплина физика, а по-късно получава половината от нейния хорариум. През 1994 г. е приета нова учебна програма по общата дисциплина физика и биофизика за студенти по фармация, в която всяка тема включва учебен материал и по физика, и по биофизика. Обединяването на двете дисциплини откри възможност за написване на единен учебник. Идеята за такъв учебник не е нова, но и сега остана неосъществена по няколко причини. От една страна те са свързани с провеждането на лабораторните упражнения и семинарите (разделени на физични и биофизични) и съгласуването им с лекционния материал. От друга страна нуждата от учебник по биофизика и за студентите по медицина и по стоматология наложи издаването на учебник, предназначен и за трите специалности.

Предлаганият нов учебник по биофизика следва традициите в преподаването на медицинската биофизика и структурата му отговаря на общоприетата. Обемът и съдържанието му са съобразени (или по-точно са ограничени) от хорариума на тази дисциплина, определен в учебните планове на специалностите медицина и фармация (30 ч. лекции и 45 ч. практически упражнения и семинари). Студентите по стоматология изучават биофизика в още по-малък

обем (15 ч. лекции и 15 ч. упражнения), който е част от материала, преподаван на другите две специалности и също се съдържа в този учебник. Изложението на някои места и особено в § 15 и § 16 може да се разглежда като илюстрация на идеята за преподаването на физика и биофизика в една учебна дисциплина.

Математичното описание на физичните явления се използва широко в съвременната биофизика. В този учебник обаче физичните формули и математичните действия са съобразени с подготовката по физика и математика, получавана в средното училище. С някои необходими понятия от висшата математика, като диференциал и производни на функция, студентите са запознати от курса по медицинска физика. За студентите по фармация срещата с тях ще бъде още по-полезна, за да си припомнят и приложат знанията, получени в курса по висша математика. Някои математични изводи и допълнения, предназначени за по-любознаителните, започват със знака

❖ и са дадени с по-дребен шрифт.

Учебникът е написан по лекционния курс, който изнасях на студентите по медицина във ВМИ – Плевен през 1988 – 1993 г., а след това обработвах и допълвах за лекциите си пред студентите по фармация в Медицинския университет – София от 1994 г. досега. Главна причина за неговото издаване бе острата нужда от такъв учебник, а приятен стимул – интересът на повечето от студентите към учебните занятия по биофизика. Доказателство за това през всичките ми години на преподаване бяха пълните аудитории и доброто представяне на студентите на нелекия изпит.

Задължен съм на г-р Емануил Янков за внушението му да преоделям абстрактността на изложението (характерна за физиката) и да го доближавам до другите учебни дисциплини (най-вече до физиологията), за да стане по-лесно разбираемо за студентите. Считам, че това и многобройните ни разговори върху конкретни въпроси по биофизика и физиология са допринесли тази книга да стане по-полезна, макар и да не е толкова добра, колкото бих желал.

София, април - юни 2001 г.

Авторът

УВОД

• *Предмет на биофизиката*

Биологичната физика, наричана накратко биофизика, не е физика, предназначена за биолози и медици. *Предмет на науката биофизика* е физиката на живата природа, а това означава, че биофизиката изучава биологичните структури и процеси с подхода и методите на физиката. Тя е неотделима и от физиката, и от биологията.

Физиката се определя като наука, която изучава строежа и свойствата на материята в пространството и времето без разлика между жива и нежива природа. Според известния биофизик Л. Блюменфелд основните закони на физиката са достатъчни за описание и разбиране на структурата и функционирането на биологичните системи. Смыслът на това твърдение е, че за разбиране на закономерностите в строежа и функционирането на тези системи не са необходими нови, специфични за тях физични закони. *Биологията* обаче в никакъв случай не се изчерпва с основните физични и химични закономерности на процесите в биологичните системи, тъй като нейните обекти са несравнимо по-сложни от неживите и са резултат на биологична еволюция.

Биофизиката е *интердисциплинарна наука*, развиваща се в граничната област между биологията, физиката, химията и математиката. В това отношение тя има много общо с биохимията, физикохимията, физиологията, молекулната биология и екологията. Тя е *точна количествена наука*, която използва математичен апарат и експериментални методи на физиката. Това я прави много по-различна от традиционната биология и от медицината в миналото, които бяха предимно описателни науки.

• *Раздели и методи на биофизиката*

Международният съюз за чиста и приложна биофизика (IUPAB) е приел биофизиката да има *три основни дяла*: молекулна биофизика, биофизика на клетката и биофизика на сложните и сензорните системи. Някои автори разглеждат и *механизмите на действие на физични фактори* (йонизиращи лъчения, електромаг-

нитни вълни, ултразвук и др.) върху биологичните системи като още един, *четвърти раздел* на биофизиката.

Молекулната биофизика изследва строежа и физикохимичните свойства на молекулите, които имат биологични функции. В сравнение с другите дялове тя има най-големи успехи, тъй като нейните обекти, главно белтъци и нуклеинови киселини, са много по-прости от обектите на клетъчната биофизика – клетки и тъкани. Главните задачи на *клетъчната биофизика* са свързани с изучаването на биологичните мембрани и биоенергетиката – транспорт на вещества, възникване и разпространение на електрични биопотенциали, механохимични процеси (мускулно съкращение и др.), фотобиологични явления (фотосинтеза, фоторецепция, зрение, биолуминесценция) и др. *Биофизиката на сложните системи* е теоретична област, разглеждаща общи за биологията и физиката проблеми, а също така физично и математично моделиране на биологични процеси. Към нея се отнасят неравновесната термодинамика, теорията на биологичните периодични процеси, общата теория и моделирането на процесите на биологичното развитие – еволюция, онтогенеза, канцерогенеза, имунитет.

Както се вижда обект на биофизиката е изучаването на *биологични системи на всички нива на организация* – електронна конфигурация и структура на биомолекули, молекулна организация и физикохимични свойства на субклетъчни структури и клетки, молекулни механизми на рецепцията, строеж и физични свойства на тъкани, функциониране на органи и системи, трансформиране на енергия, регулиране и математично моделиране на сложни системи, взаимодействия между популации, проблеми на организацията в екосистеми и в биосферата.

Много от известните експериментални физични и физикохимични *методи за изследване* на веществото се използват в *молекулната и клетъчната биофизика*. С оглед получаването на адекватна информация към тях се поставят допълнителни изисквания да имат висока чувствителност и да не увреждат живите системи. За определяне на маса, размери и форма се прилага ултрацентрифугиране, вискозиметрия, оптична и електронна микроскопия, спектрополяриметрия, разсейване на светлина и рентгенови

лъчи и др. За разделяне и идентификация се използват различни видове хроматографски, електрофоретични, имунологични и ядрено-физични методи. Структура и динамика се изследват главно със спектрални методи в целия диапазон на електромагнитните вълни – радиоспектроскопия (електронен парамагнитен и ядрен магнитен резонанс), оптична абсорбционна и флуоресцентна спектроскопия, комбинационно разсейване, дисперсия на оптичното въртене и кръгов дихроизъм, рентгенов структурен анализ, ядрен γ -резонанс и др.

- **Медицинска биофизика**

Тази част от биофизиката, която е ориентирана към изучаване на човешкия организъм и процесите, свързани с нарушаване на неговите жизненни функции, е обособена под името *медицинска биофизика*.

Най-важният проблем на медицинската биофизика е изясняването на физичните и физикохимичните основи на патологичните процеси. Той вече обхваща една отделна област, наречена *патобιοфизика*. Биофизичният подход се оказва особено ценен за изследване на сложни предпатологични състояния, когато все още е възможно ефективно лечение и връщане на организма в нормално състояние. Такива например са предраковите и предлежковни състояния, тъй като канцерогенезата е многоетапен процес на преход на здравата тъкъв в злокачествена, характеризиращ се с липса на видими признаци в началните етапи.

Биофизични методи за изследване на проникваемост на клетки и тъкани, на взаимодействия на клетъчната повърхност с хормони, антигени, антитела и синтетични химични съединения се използват във *фармакологията* и *токсикологията*. Те са необходими при разработването и оценяването на нови лекарства както за определяне скоростите на резорбция и отделяне на лекарствени вещества в организма, така и за изясняване на клетъчни и молекулни механизми.

Изясняването на механизмите на физичните въздействия върху организма на различни нива е биофизична основа и на *физиотерапията*, и на *профилактиката*. В това отношение е съществено разграничаването на онези въздействия, предизвикващи нормална адаптивна реакция от въздействията, водещи до необратими

последици. Друго направление в медицинската биофизика е изнамирането на физични и физикохимични параметри, характеризиращи състоянието на клетки и тъкани, които могат да се използват като основни или допълнителни показатели в *диагностиката* на заболяванията.

Изследванията по *биомеханика* върху механичната устойчивост на човешкото тяло, органите и тъканите придобиват все по-голямо значение за спортната и космическата медицина, хигиената и професионалните заболявания, стоматологията, съдебната медицина, ортопедията и травматологията. Разработването на нови материали за целите на медицинската техника и протезирането е не само инженерен, но и биофизичен проблем, тъй като включва и изследвания за адхезия и тъканна съвместимост.

В системата на медицинското образование биофизиката има и по-особено, *мирогледно значение*. Тя демонстрира количествено описание на явленията, строги и логични доказателства, изводи въз основа на точни експерименти, най-нова апаратура и методи за изследване, физично и математично моделиране. Тези нейни характерни черти са тенденции в цялата съвременна наука, включително и в биологията и медицината. Те са особено необходими в онези области, където се използват приблизителни и качествени категории и оценки.

Глава I. БИОТЕРМОДИНАМИКА

§ 1. ОСНОВИ НА ТЕРМОДИНАМИКАТА

§ 1.1. Предмет, основни понятия и раздели на термодинамиката

Предмет на термодинамиката са общите закономерности на превръщане на енергията в топлина и работа при пренасянето ѝ между телата. Термодинамиката е описателна, макроскопична, феноменологична наука. Феноменологичните теории, за разлика от атомно-молекулните, изучават закономерностите, без да ги свързват с конкретна структура на веществото. Термодинамиката не дава отговор на въпроса каква е природата или какъв е механизмът на явлението. Тя изследва изключително енергийната страна на процесите и дава отговор на въпроса възможно ли е протичане на даден процес от енергийна гледна точка. *Законите на термодинамиката са универсални* за неживата и живата природа, тъй като те не са изведени чрез разглеждане на конкретната същност на процесите (напр. загряване на едно тяло или мускулно съкращение).

Термодинамична система е всяка част от околния свят (съвкупност от материални обекти, ограничени в пространството с материална или въображаема граница), която се описва и изследва от термодинамична гледна точка. Такива системи са напр. клетката, митохондрията, организъмът, биосферата. Термодинамичните методи са приложими обаче само към *макроскопични системи*, т. е. такива системи, които се състоят от голям брой частици. В зависимост от взаимодействието на системата с околната ѝ среда тя може да бъде:

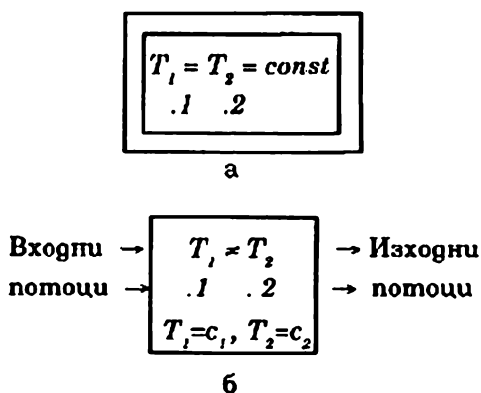
- *изолирана*, ако не обменя със средата нито енергия E , нито вещество (маса) m ($\Delta E = 0$, $\Delta m = 0$);
- *затворена*, ако обменя само енергия ($\Delta E \neq 0$, $\Delta m = 0$);

· *отворена*, ако обменя със средата и енергия, и вещество ($\Delta E \neq 0$, $\Delta m \neq 0$);

Живият организъм като цяло е отворена система. Само в отделни части на клетката може да има условия, характерни за затворена и дори за изолирана система.

Физичните величини, които характеризират свойствата на една термодинамична система, като напр. температура T , обем V , налягане p и др., се наричат *термодинамични параметри*. Съвкупността от стойностите на параметрите определя *термодинамичното състояние*, а изменението дори на един параметър води до изменение на състоянието на системата като цяло. Един параметър, който е функция на други параметри на системата, е *функция на състоянието*, ако има точно определена стойност за всяко състояние и тази стойност не зависи от пътя или начина, по който системата е достигнала до това състояние.

Всяка изолирана система преминава с течение на времето в състояние на *термодинамично равновесие*, при което параметрите ѝ имат определени, еднакви във всички части на системата и постоянни във времето стойности (фиг. 1.1 а). Настъпването на такова равновесно състояние означава прекратяване на всякакви процеси, освен случайни флуктуации около равновесното положение, което в случай на био-



Фиг. 1.1 Схеми на термодинамично равновесие (а) и стационарно състояние (б)

логична система е равносилно на смърт. Изолирана система в природата не съществува, дори само за това, че е невъзможно системата да се обради с обвивка, която не провежда топлина. Изолираната система е само един удобен термодинамичен модел.

Затворените и отворените системи могат да преминават в *стационарно състояние*, при което параметрите им не се изменят с времето, но в различни части на системата могат да имат различни стойности. Например телесната температура е различна

в различни части на човешкото тяло или концентрацията на йони е различна от двете страни на клетъчната мембрана, но техните стойности са сравнително постоянни във времето. Стационарното състояние се поддържа с потоци от енергия и вещество, преминаващи през системата (фиг. 1.1 б).

Процес е преход на системата от едно равновесно състояние в друго. Изискването и двете състояния да бъдат равновесни означава, че те могат да бъдат охарактеризирани с определени стойности на техните параметри. В зависимост от това дали междинните състояния на един процес са равновесни или неравновесни, този процес е съответно *равновесен* или *неравновесен*. В системата се извършва *изопроцес*, когато поне един от параметрите ѝ остава постоянен, т. е. изменението му е равно на нула. Процесът е *изохорен* при $dV = 0$, *изобарен* - при $dp = 0$, *изотермен* - при $dT = 0$, *адиабатен* (*изоентропичен*), ако не се обменя топлина Q или ентропия S ($dQ = 0$, тогава и $dS = 0$), а може да има и комбинация между такива процеси.

Един процес се нарича *обратим*, ако може да протече и в обратна посока (от крайното състояние в началното) през същите междинни състояния на правия процес, без да настъпват никакви изменения в околната среда. Обратимият процес е една абстракция. Всички реални процеси в природата са *необратими*, тъй като протичането им в обратна посока е съпроводено с изменения в околната среда. Така например обратимите процеси протичат без превръщане на част от енергията в топлина. При необратимите процеси това не е възможно поради наличието на сили на триене, които предизвикват нагряване на околните тела. Някои характерни примери за необратими процеси са разширение на състен газ, дифузия, топлопроводност. Връщането на системата в началното ѝ състояние в тези случаи изисква извършване на работа от външни тела. Всички равновесни процеси са обратими, а неравновесните - необратими.

Този раздел на *термодинамиката*, в който се разглеждат системи в състояние на равновесие, се нарича *класическа* или *равновесна термодинамика*, а също и само *термодинамика*. Реалните термодинамични системи (които са отворени) и реалните процеси и

състояния (които са неравновесни) се разглеждат в *неравновесната термодинамика* (вж. § 3). Последната се дели на термодинамика на системите, които са в състояние близо до равновесие (слабо неравновесни системи), наречена *линейна* и на термодинамика на системите далече от равновесие (силно неравновесни системи), наречена *нелинейна неравновесна термодинамика* (табл. 1.1).

Табл. 1.1. Раздели на термодинамиката

Раздел	Системи	Състояния	Процеси
Равновесна термодинамика	Изолирани Затворени	Равновесни	Обратими Необратими
Неравновесна термодинамика Линейна Нелинейна	Отворени	Неравновесни Близо до равновесие Далече от равновесие	Необратими

Основните резултати в линейната термодинамика се отнасят до енергийното спрягане на процесите и са получени въз основа на уравненията на Онзагер (L. Onsager). Проблемите на нелинейната термодинамика са свързани с търсенето на критерии за еволюцията и устойчивостта на стационарните състояния с помощта на изходни математични модели.

§ 1.2. Първи принцип на термодинамиката, вътрешна енергия

Първият принцип на термодинамиката е обобщение на многовековния опит на човечеството. Той е приложение на закона за запазване на енергията към процесите на превръщане на топлината в работа и енергия. За *изолирана система* този принцип се формулира обикновено по няколко начина. Два от тях са следните:

- независимо от измененията, които настъпват в системата, общата сума от енергиите ѝ остава постоянна:

$$E_1 + E_2 + \dots + E_n = \sum_{i=1}^n E_i = \text{const};$$

- не е възможно построяване на вечен двигател от първи род (perpetuum mobile 1), който би извършвал механична работа, без да получава енергия от външен източник.

Енергията на една система може да се промени само в резултат на обмен на енергия с околната среда, т. е. ако системата е затворена или отворена. В този случай принципът се формулира така:

- количеството топлина Q , предадено на една затворена система, отива за изменение на вътрешната ѝ енергия ΔU и за извършване на работа A от тази система против външни сили:

$$Q = \Delta U + A .$$

Под *вътрешна енергия* на една система се разбира общата сума от всички видове енергии на частиците, от които се състои системата (кинетична, потенциална, междуатомна и вътреатомна енергия), без в нея да се включва кинетичната и потенциалната енергия на системата като цяло. *Топлината* е част от вътрешната енергия, тъй като се определя само от кинетичната и потенциалната енергия на частиците. Вътрешната енергия е *функция на състоянието* на системата и за дадено състояние има точно определена стойност. Разликата $\Delta U = U_2 - U_1$ е разлика между две нейни стойности U_2 и U_1 , съответстващи на крайното и началното състояние на системата и не зависи от пътя (процесите), по който е реализиран преходът между тях. Така едно и също изменение ΔU може да се получи от различни комбинации между внесено количество топлина Q и извършената от системата работа A :

$$\Delta U = Q_1 - A_1 = Q_2 - A_2 = \dots = Q_n - A_n .$$

Количеството топлина и работата не могат да се представят като разлики на стойностите им в крайното и началното състояние, тъй като са функции на процеса или преместването, а не функции на състоянието. Затова и техните символи се пишат без знака за изменение Δ , а в случаите на безкрайно малки изменения не се означават със знака d за пълен диференциал, а със знака δ . Въпреки това означенията dQ и dA ще бъдат използвани само от съображения за единство. С тях първият принцип на термодинамиката придобива вида:

$$\boxed{dQ = dU + dA} . \quad (1.1)$$

Стойностите на Q , A , ΔU и съответно dQ , dA , dU могат да бъдат положителни (системата получава топлина от външни

тела, вътрешната ѝ енергия нараства, тя извършва работа) или отрицателни (системата отдава топлина, вътрешната ѝ енергия намалява, външни сили извършват работа върху нея).

§ 1.3. Втори принцип на термодинамиката, ентропия

Първият принцип определя количествените съотношения между различните форми на енергията в даден процес, но не показва посоката, в която може да протече този процес. Например според него при топлообмен е възможно спонтанното преминаване на топлина не само от по-топлото към по-студеното тяло, но и от по-студеното към по-топлото тяло. Известно е обаче, че в природата вторият процес не се среща - водата в еднн съд не може да закипи като поглъща топлина от въздуха в стаята.

Вторият принцип, както и първият, е обобщение на натрупан опит. Той също има няколко формулировки:

- според Клаузиус (R. Clausius) топлината не може спонтанно да преминава от по-студено към по-топло тяло;

- според Томсън (W. Thomson) не е възможно да се построи вечен двигател от втори род (perpetuum mobile 2), т. е. такъв периодично действащ двигател, който да превръща изцяло получената топлина в работа.

С. Карно (N. S. Carnot) доказва, че коефициентът на полезно действие на топлинните машини η може да бъде най-много равен на единица ($\eta \leq 1$), като равенството се отнася за машина с обратим работен цикъл (обратима машина).

Вторият принцип на термодинамиката се характеризира количествено с величината *ентропия*, която е функция на състоянието на системата, каквато е и вътрешната енергия. Ентропията S се дефинира чрез нейното изменение dS , получено при безкрайно малко изменение на състоянието на системата в резултат на обратим процес. То е отношение на погълнатата или отдадена от системата топлина dQ и температурата T :

$$\boxed{dS = \frac{dQ}{T}}. \quad (1.2)$$

Доказва се, че ако процесът е необратим, е изпълнено неравенството:

$$dS > \frac{dQ}{T}.$$

В случай на *изолирана система*, т. е. когато няма обмяна на топлина с околната среда ($dQ = 0$), за изменението на ентропията при обратим и необратим процес се получава *неравенството на Клаузиус*:

$$\boxed{dS \geq 0}. \quad (1.3)$$

Този извод дава възможност за *две нови формулировки* на втория принцип, валидни за изолирана система:

- ентропията не се променя при обратими процеси ($dS = 0$) и нараства при необратими ($dS > 0$);

- в природата са възможни само такива процеси, при които ентропията нараства, тъй като всички реални процеси са необратими.

Ентропията на затворена и отворена система може да намалява ($dS < 0$), ако системата отдава топлина на околната среда ($dQ < 0$).

Вторият термодинамичен принцип е *критерий за посоката* на енергийните превръщания в изолирана система. Посоката се определя от нарастването на ентропията, но ентропията не може да се увеличава до безкрайност. Така с течение на времето температурата на телата в изолираната система се изравнява, топлообменът спира и настъпва състояние на термодинамично равновесие. В това състояние всички параметри на системата, включително и ентропията, придобиват постоянни стойности ($dS = 0$), а ентропията достига своя максимум ($S = S_{\max}$). Такава система не е способна да върши работа и не може спонтанно да излезе от равновесното състояние. За да стане това е необходима външна енергия.

Първият и вторият принцип на термодинамиката могат да бъдат обединени в един *обобщен принцип* в случай на обратим изотермен процес. Тогава от (1.2) $dQ = T dS$, а като се има предвид, че работата dA за изменение на обема на газ с dV при налягане p е $dA = p dV$, първият принцип (1.1) добива вида:

$$\boxed{dU = T dS - p dV}. \quad (1.4)$$

§ 1.4. Ентропията като мярка за непогреденост и вероятност

Според молекулно-кинетичната теория ентропията характеризира и непогредеността на частиците в една термодинамична система. Така например когато една течност се изпарява, тя поглъща топлина и ентропията на системата течност/пара нараства ($dQ > 0$ и $dS > 0$). При това нараства и непогредеността на частиците ѝ, преминали в газообразно състояние. Обратно, при кондензацията системата отделя топлината на изпарение, ентропията ѝ намалява ($dQ < 0$ и $dS < 0$), а погредеността на системата се увеличава. Ентропията не намалява само в изолирана система, а в случая системата не е такава.

Погредеността на една система се характеризира количествено с величината *термодинамична вероятност* (статистическо тесло) на дадено състояние. Термодинамичната вероятност обикновено има твърде големи числени стойности, но е пропорционална на математичната вероятност. Нейният смисъл може да се изясни като се разгледа например една система, съставена от 4 молекули *a*, *b*, *c* и *d*, които могат да преминават през клетъчна мембрана*). Системата може да се намира в различни състояния в зависимост от разпределението на молекулите от двете страни на мембраната. Тези състояния се наричат *макросъстояния*, ако се описват с параметри, които характеризират системата като цяло. Състоянията на системата се наричат *микросъстояния*, ако се описват с параметрите на всяка една молекула. Така параметри на едно макросъстояние са броят на молекулите от едната страна на мембраната и броят им от другата страна. Параметри на микросъстоянието пък са положенията (координатите) на всяка една молекула спрямо мембраната.

Всяко макросъстояние може да се реализира по различни начини, чрез различни комбинации на конкретни молекули, т. е. чрез различни микросъстояния. Да се знае в кое от микросъстоянията се

*) Тази система не е макроскопична и не отговаря на изискването за термодинамична система, но въпреки това се използва за илюстрация, тъй като е нагледна и води до правилен извод.

намира системата означава да се знае всичко за нея, тъй като се знае положението на всяка молекула. По дефиниция *термодинамичната вероятност* W е равна на броя на микросъстоянията, чрез които може да се реализира дадено макросъстояние. В разглеждания пример са възможни 5 макросъстояния, а съответните им микросъстояния (термодинамични вероятности) са от 1 до 6 (табл. 1.2).

Табл. 1.2. Макросъстояния и микросъстояния на система от 4 частици

Макросъстояние:	0/4	1/3	2/2	3/1	4/0
Микросъстояния	-/abcd	a/bcd b/acd c/abd d/abc	ab/cd ac/bd ad/bc bc/ad bd/ac cd/ab	abc/d abd/c acd/b bcd/a	abcd/-
Терм. вероятност W :	1	4	6	4	1

От таблицата се вижда, че термодинамичната вероятност е най-голяма в състоянието с равномерно разпределение на молекулите (2/2). То е най-вероятното състояние и спонтанните процеси в системата ще протичат в посока на реализирането му. От друга страна това състояние е *термодинамично равновесие*, тъй като параметърът брой на молекулите има постоянна стойност от двете страни на мембраната. Известно е, че в състояние на термодинамично равновесие *ентропията* има *максимална стойност*. Микросъстоянията, в които молекулите се събират само от едната страна на мембраната, са най-малко вероятни ($W = 1$). В тях обаче погрешеността на частиците е най-голяма, тъй като положението им в системата е точно определено. Следователно между ентропията, термодинамичната вероятност и непогрешеността на една система съществува връзка.

Л. Болцман (L. Boltzmann) е установил, че ентропията S е пропорционална на натуралния логаритъм от термодинамичната вероятност W с коефициент на пропорционалност $k = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$, наречен *константа на Болцман*:

$$S = k \ln W \quad (1.5)$$

12116000 5464

Този израз показва, че нарастването на ентропията означава преход в състояние, което е по-вероятно. От друга страна по-вероятно е онова състояние, което е по-малко подредено. *Най-вероятно е състоянието с максимална ентропия и с най-голяма неопределеност.* Невъзможността за протичане на някои процеси всъщност означава, че вероятността за протичането им е много малка - тези процеси не са вероятни, т. е. те са невъзможни. Примери за преход на система в най-вероятно състояние са следните явления:

- превръщане на насоченото движение на частиците на едно движещо се тяло в хаотично при внезапното му спиране, проявявано като преход на кинетичната му енергия в топлина;

- намаляване на подредеността на частиците в пространството при дифузия и др.

Всяка термодинамична система е в състояние с максимална подреденост само при температурата абсолютна нула ($T = 0 \text{ K}$). Тогава всичките ѝ частици са неподвижни, а при кристалите те се намират точно във възлите на кристалната решетка. Това състояние е единствено възможно, то се реализира с едно микросъстояние, има вероятност $W = 1$ и ентропията му е

$$S = k \ln 1 = 0. \quad (1.6)$$

Изводът, че *ентропията става нула при температура 0 K*, се нарича *теорема на Нернст* (W. Nernst) или *трети принцип на термодинамиката*. Значението му се определя от това, че той дава възможност да се пресмятат абсолютните стойности на ентропията на чисти вещества при различни температури. За тази цел е необходимо да е известна стойността ѝ при една произволна температура, тъй като от начина на дефиниране на ентропията (като пълен диференциал) следва, че може да се определя само нейното изменение с точност до една адитивна константа.

Първият принцип на термодинамиката изразява енергийния баланс на един процес, а вторият показва възможната му посока. За разлика от първия, вторият принцип има статистически характер, поради което е неприложим за системи, съставени от малък брой частици. Както вторият принцип съществено допълва първия, така и понятието ентропия, което той въвежда, допълва понятието енергия.

§ 1.5. Термодинамични потенциали

Параметрите, които характеризират състоянието на една система, се разделят на независими променливи и функции. Такова разделяне е условно, тъй като едните и другите са взаимно зависими. Така например четирите променливи: налягане p , обем V , температура T и ентропия S са свързани помежду си с две равенства и само две от тези променливи остават независими. Свързват ги обобщеният принцип на термодинамиката $dU = T dS - p dV$ и уравнението на състоянието $pV = RT$, където $R = 8,314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ е универсалната газова константа.

Всяка функция на независими променливи, които характеризират състоянието на една система, е *функция на състоянието* на системата (*термодинамична функция*). Тази функция има напълно определена стойност в дадено състояние, която не зависи от пътя или начина, по който системата е достигнала до това състояние. Функции на състоянието са например p , V , T , S , U , но освен тях има още много функции на състоянието, тъй като всяка функция от функция на състоянието също е функция на състоянието.

Термодинамични потенциали са наречени четири функции на състоянието и всеки от тях се дефинира като функция на две точно определени променливи измежду параметрите p , V , T и S . Това дава възможност другите два параметъра (неизбрани за променливи) да бъдат определяни от съответния термодинамичен потенциал като негови производни. Така например вътрешната енергия U е термодинамичен потенциал по отношение на независимите променливи S и V , а от него могат да се пресмятат стойностите на T и p . Други функции на състоянието са термодинамични потенциали при друг избор на независимите променливи. Това са: енталпия H - при променливи S и p , свободна енергия на Хелмхолц (H. Helmholtz) F - при променливи T и V , свободна енергия на Гибс (J. Gibbs) G - при променливи T и p .

Дефиниционното равенство на всеки термодинамичен потенциал, изменението му и някои следствия са дадени в табл. 1.3.

Като следствие от изменението на вътрешната енергия dU се получава изводът, че при изохорен процес ($dV = 0$) това нейно из-

меншият е точно равно на количеството погълната или отделена топлина dQ , тъй като тогава не се върши работа. При изобарни процеси ($dp = 0$), които са характерни за системи в течна фаза, тази топлина е равна на изменението на енталпията dH . Ето защо енталпията се използва при химичните реакции, протичащи в течна фаза, за характеризиране на топлинния ефект от окислението на веществата и се нарича още *топлосъдържание*.

Табл. 1.3. Термодинамични потенциали: вътрешна енергия U , енталпия H , свободна енергия на Хелмхолц F и свободна енергия на Гибс G

Потенциал	Дефиниция	Изменение	Следствие
$U = U(S, V)$	$U = Q - A$	$dU = TdS - pdV$	ако $dV = 0$, $dU = dQ$
$H = H(S, p)$	$H = U + pV$	$dH = TdS + Vdp$	ако $dp = 0$, $dH = dQ$
$F = F(T, V)$	$F = U - TS$	$dF = -SdT - pdV$	ако $dT = 0$, $dF = -dA$
$G = G(T, p)$	$G = F + pV =$ $= H - TS$	$dG = -SdT + Vdp$	ако $dV = dp = 0$, $dG = dF$

От израза за dF следва, че при изотермни условия ($dT = 0$) свободната енергия на Хелмхолц F е онази част от вътрешната енергия, която системата може да превърне в работа. Може да се приеме, че топлокръвните организми, които имат постоянна телесна температура, извършват работа за сметка на намаляване на тяхната свободна енергия. Произведението TS се нарича *свързана енергия* и представлява онази част от U , която не преминава в работа, а се разсейва във вид на топлина. С нарастване на ентропията нараства и свързаната енергия, което означава увеличаване на разсеяната енергия. Това още един път показва, че ентропията е мярка за разпиляването (дисипацията) на енергията и за необратимостта на процесите.

Свободната енергия на Гибс G се дефинира аналогично на H с F вместо U , или аналогично на F - с H вместо U . При биохимичните превръщания обикновено изменението и на обема, и на налягането са незначителни и практически $dG = dF$.

Всички изрази за измененията на термодинамичните потенциали са получени въз основа на равенството $dQ = TdS$, което е изпълнено само за обратим изотермен процес. При необратим

процес ($dQ < TdS$) измененията на термодинамичните потенциали и следствията от тях се изразяват със следните неравенства:

$$dU < TdS - pdV, \quad \text{ако } dS = dV = 0, \quad dU < 0;$$

$$dH < TdS + Vdp, \quad \text{ако } dS = dp = 0, \quad dH < 0;$$

$$dF < -SdT - pdV, \quad \text{ако } dT = dV = 0, \quad dF < 0;$$

$$dG < -SdT + Vdp, \quad \text{ако } dT = dp = 0, \quad dG < 0.$$

Вижда се, че при необратим процес всеки термодинамичен потенциал непрекъснато намалява до установяване на равновесно състояние, ако съответните му независими променливи не се променят. При термодинамично равновесие стойностите на всички параметри са постоянни и потенциалите достигат минималните си стойности. Следователно намаляването на един термодинамичен потенциал е *критерий за посоката на един процес и за устойчивостта на една система*. Така например в система с постоянна температура и обем могат да се извършват само такива изотермно-изохорни процеси, при които свободната енергия на Хелмхолц намалява, а устойчиво състояние за тази система е състоянието с минимална свободна енергия $F = F_{\min}$.

Термодинамичните потенциали, аналогично на ентропията, могат да се използват при формулиране на *вторин принцип на термодинамиката* за затворена система по следните два начина:

- термодинамичните потенциали не се променят при обратими процеси и намаляват при необратими, ако съответните им независими променливи остават постоянни;

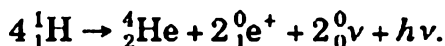
- всички реални процеси протичат спонтанно в посока на намаляване на термодинамичните потенциали (при постоянство на съответните им променливи) и в посока на нарастване на ентропията до установяване на равновесно състояние, при което всички потенциали достигат минимални стойности, а ентропията – максимална.

§ 2. ПРЕОБРАЗУВАНЕ НА ЕНЕРГИЯТА В БИОЛОГИЧНИТЕ СИСТЕМИ

§ 2.1. Източници на енергия за живите организми

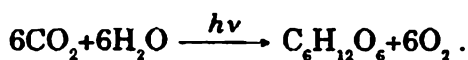
Най-важната особеност на живите организми е тяхната способност да поглъщат енергия, да я преобразуват в различни форми, да я натрупват и използват в метаболитните процеси за осигуряване на растежа, развитието и размножаването. Метаболитни процеси са окислително-редукционните процеси, синтезът и хидролизата на макроергични съединения, транспортът на вещества през мембраните, двигателната активност, фотосинтезата. Общите закономерности на процесите на енергообмена и преобразуването на енергията в полезна работа при биохимичните превръщания се изучават с методите на *класическата термодинамика*.

Източници на енергия за всички живи организми на Земята са слънчевото лъчение и енергията, отделяна при химичните превръщания. *Слънчевото лъчение* е първичният източник. Енергията му е резултат от ядрени реакции на синтез, протичащи в Слънцето при температура от порядъка на 10^8 К. Една такава реакция е сливането на водородни ядра в хелиев, при което освен позитрони и неутрино-частици се отделят фотони с енергия $h\nu$:



Фотосинтезиращите клетки на растенията поглъщат част от енергията на слънчевото лъчение, която възбужда молекулите на хлорофила, трансформира се в енергия на електроните, а след това - в енергия на химичните съединения аденозинтрифосфат (АТФ) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ). Синтезата на АТФ с участието на светлинната енергия се нарича фотосинтетично фосфорилиране. С енергията на АТФ се *синтезират органични съединения* - глюкоза, нишесте, целулоза и др. (цикъл на Калвин) като въглеродният диоксид от въздуха се редуцира с водород, получен чрез фотолиза на водата и редукция на НАДФ. Многостепенният процес на фотосинтезата обикновено се представя с

едно сумарно уравнение, което включва само изходните вещества и крайните продукти, без да отразява междинните реакции:



Други организми, неспособни на фотосинтеза, получават необходимата им енергия чрез окисление с атмосферен кислород на богатите на енергия растителни продукти. Нито енергията на слънчевото лъчение, нито енергията от окислението на хранителните вещества (въглехидрати, белтъци, масти) може да се използва пряко за извършване на работа в живите организми. Организмите могат да използват енергията на окислителните процеси единствено след превръщането ѝ в химична енергия на *макроергичните връзки* на съединението АТФ. Синтезът на АТФ в митохондриалните мембрани се нарича *окислително фосфорилиране*, а в цитоплазмата при гликолиза - *субстратно фосфорилиране*. Енергията на макроергичните връзки E , която е универсалното клетъчно гориво, се отделя при хидролизата на АТФ на аденозиндифосфат (АДФ) и фосфат (Ф):



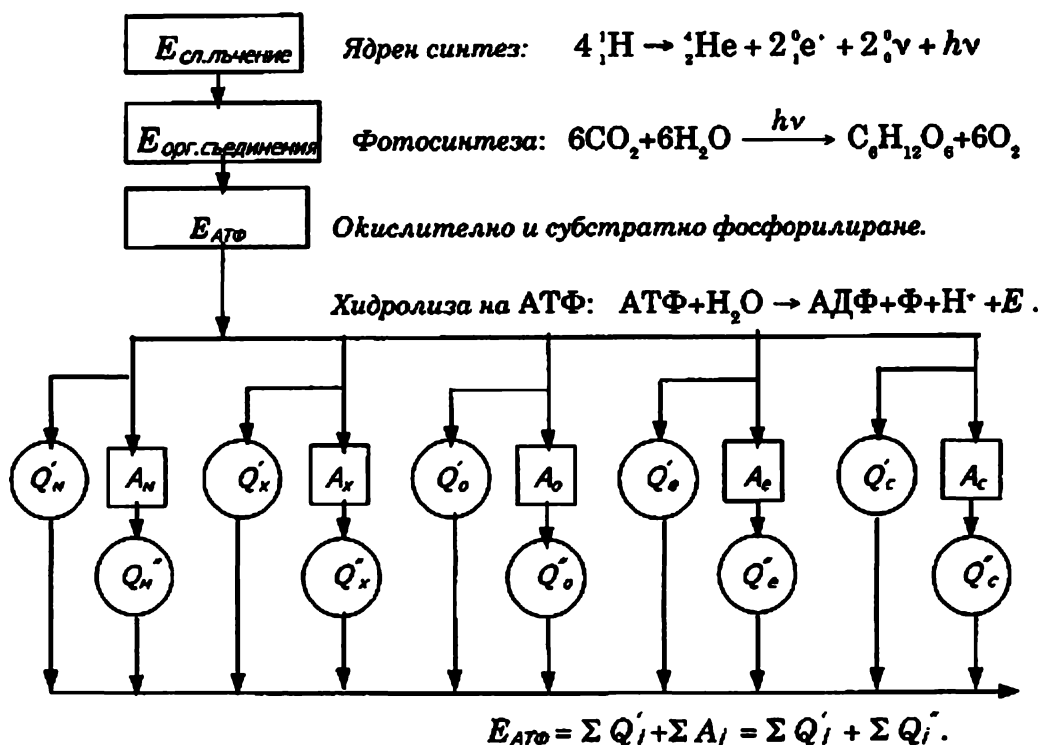
§ 2.2. Видове работа и топлина в живите системи

Енергията, получавана в биологичните системи при хидролиза на АТФ, дава възможност в тях да се извършва механична, химична, осмотична, електрична работа и работа за свстене (фиг. 2.1).

Механична работа A_x е преместването на части, органи и цялото тяло на живите организми против външни механични сили. Известно е, че съкращението на скелетните мускули се дължи на многократни обратими конформационни промени в крайните части на белтъка миозин под действие на АТФ, на образуване и разпадане на актиномиозиновия комплекс, съпроводено с хидролиза на АТФ.

Химична работа A_x е синтезът на различни високомолекулни съединения от нискомолекулни, както и други химични реакции, изискващи външна енергия (ендергонни реакции). Белтъци, нуклеинови киселини, полизахариди и др. се синтезират в живите

организми чрез фосфорилиране на началните и на междинните продукти на реакции, използващи енергията на АТФ.



Фиг. 2.1. Схема на източниците на енергия и превръщането ѝ в работа и в топлина в биологична система

Осмотична работа A_o е преносът на вещества от област с по-ниска към област с по-висока концентрация, осъществяван с енергията на АТФ по механизмите на активен транспорт. Резултат от тази работа е създаването на концентрационни градиенти, които са движещи сили на дифузията.

Електрична работа A_e е преносът на заредени частици (електрони, протони, йони) в електрично поле по посока на нарастване на електричния потенциал. Електричната работа е активен транспорт, както осмотичната, но за разлика от нея създава електрични градиенти. Извършва се от специфични мембранни структури, наречени електрогенни помпи. Например Na^+/K^+ -евата помпа е ензим, хидролизиращ АТФ и пренасящ противопосочно през мембраната различен брой йони в резултат на ко-

информационни изменения в неговата молекула. Електричната работа създава биопотенциали и дава възможност за пасивен транспорт на йоните при предаване на възбуждането по нерв.

Работа за светене A_c е излъчването на видима светлина от някои организми и свърхслабото светене на тъканите на всички живи същества, наречено биохемилуминесценция.

Всички видове работа в биологичните системи се извършват с отделяне на топлина. Прието е топлината, получавана в живия организъм, да се разделя на два вида - първична или основна и вторична или активна (фиг. 2.1). *Първичната топлина* е резултат от неизбежното разсейване на енергията в топлина при протичане на всички необратими процеси. Образоването на тази топлина е следствие от необратимостта на жизнените процеси, протичащи с к.п.г. по-малък от единица. Количеството първична топлина е пропорционално на интензитета на обменните процеси и обратно пропорционално на техния к.п.г.

Онази част от енергията, която се превръща във всички видове работа на живата система, т. е. полезната енергия, също преминава в топлина, наречена *вторична*. Например първична е топлината, отделена при превръщането на енергията на АТФ в механична работа на сърцето, а вторична - топлината, отделена при триенето на кръвта в стените на кръвоносните съдове. Основната част от вторичната топлина се получава при мускулната дейност и нейното количество е пропорционално на свършената работа, т. е. на активността на тъканите. Разбира се, във вторична топлина не се превръща онази част от механичната работа на мускулите, която се извършва срещу външни сили извън организма.

Топлината, която се отделя при работа на живите системи, не е *движеща сила* за тях. Тя е подобна на топлината, която се образува при триенето на частите на една машина, а не е като онази топлина, която ги движи. Докато топлината машина може да превърне топлината в работа само при наличие на температурна разлика, топлокръвните животни извършват работа при *изотермични условия*. Те обаче имат нужда от топлина, за да поддържат температурата си постоянна и затова образуването на топлина в

техния организъм не е безполезен процес. В този смисъл организъмът може да се сравни с топлоелектрическа централа, която произвежда електроенергия, но същевременно използва отделената при това топлина за отопление. Всичко това показва, че *организмът не е топлинна машина, а химична* и работи едновременно като химико-механична, химико-осмотична и химико-електрична машина.

§ 2.3. Електрохимичен потенциал, свободна енергия и посока на процесите

В отворените системи, които обменят вещество с околната среда и в системи, в които се извършват взаимни превръщания на един вид частици в друг, се променя както общият брой на частиците, така и броят на частиците от определен вид. Броят на частиците се променя например при химични реакции, фазови преходи, поглъщане и излъчване на кванти светлина, ядрени превръщания и др.

Изменението на вътрешната енергия dU на една затворена термодинамична система се определя само от топлообмена dQ и от извършената работа dA . В *система с променлив брой частици* изменението на вътрешната енергия зависи още и от изменението на броя на частиците, тъй като всяка частица има някаква енергия. За система, съставена само от един определен вид частици, чийто брой се изменя с dN , изменението на вътрешната енергия е:

$$dU = dQ - dA + \mu dN = TdS - pdV + \mu dN. \quad (2.1)$$

Коефициентът μ се нарича *химичен потенциал* на дадения вид частици. Той не е термодинамичен потенциал, а аналогично на V , p , T и S е параметър на системата. Като всеки параметър μ е функция и на други параметри, например $\mu = \mu(T, p, V)$. Смисълът му се получава от (2.1) за система, която не обменя топлина ($dQ = 0$) и има постоянен обем ($dV = 0$):

$$dU = \mu dN, \quad \mu = \frac{dU}{dN}.$$

Следователно химичният потенциал μ е равен на изменението на вътрешната енергия на една топлоизолирана система с постоянен обем при изменение на броя на частиците ѝ с единица.

В случай на система, съставена от няколко различни вида частици (напр. k вида), химичният потенциал зависи от броя на всеки отделен вид частици, а не от общия им брой, тъй като μdN в (2.1) трябва да се замени с $\sum_{i=1}^k \mu_i dN_i$. Химичният потенциал на i -

тия вид частици в една идеална система, т. е. система в която се пренебрегват взаимодействията на този вид частици помежду им, се изразява с отношението на техния брой N_i и общия брой частици в системата N :

$$\mu_i = \mu_{i0} + RT \ln \frac{N_i}{N}. \quad (2.2)$$

Тук μ_{i0} е химичният потенциал на i -тия вид частици, когато в системата няма други видове частици, т. е. $\mu_i = \mu_{i0}$ при $N_i = N$. Величината μ_{i0} се нарича *стандартен химичен потенциал* и зависи от температурата, налягането и природата на веществото. R е универсалната газова константа, а T – абсолютната температура.

Ако частиците са електрически заредени (електрони, йони) и системата се намира в електрично поле с потенциал φ , вместо химичен се използва *електрохимичен потенциал* μ^* :

$$\mu^*_i = \mu_i + zF\varphi, \quad (2.3)$$

където μ_i е химичният потенциал в отсъствие на електрично поле, z е броят на зарядите на една частица с техния знак, а $F = 9,649 \cdot 10^4$ C.mol⁻¹ е константата на Фарадей.

При преход на системата от едно състояние в друго, при което броят на един от видовете частици се променя от N_1 на N_2 , а електричният потенциал – от φ_1 на φ_2 , електрохимичният потенциал на този вид частици ще се промени от μ^*_1 на μ^*_2 . Изменението му $\Delta\mu^*$ за един мол вещество е:

$$\Delta\mu^* = \Delta\mu + zF(\varphi_2 - \varphi_1) = \Delta\mu_0 + RT \ln \frac{N_2}{N_1} + zF\Delta\varphi. \quad (2.4)$$

Всяко от събираемите в израза (2.4) съответства на работа за промяна на вътрешната енергия на един мол вещество при прехода му от едно състояние в друго. То може да бъде както положител-

но, така и отрицателно в зависимост от това дали тази работа се върши от външна сила върху системата (енергията ѝ нараства) или системата върши работа срещу външна сила (енергията ѝ намалява).

Първото събираемо има смисъл на *химична работа* за синтез или разлагане на един мол от даден компонент на системата при прехода ѝ между двете състояния. Смисълът на второто събираемо става по-ясен като се има предвид, че отношението на броя на частиците в определен обем е равно на отношението на техните моларни концентрации c_1 и c_2 в двете състояния. Тогава

$$RT \ln \frac{N_2}{N_1} = RT \ln \frac{c_2}{c_1}.$$

Това е *осмотичната работа* за изменение на моларната концентрация от c_1 на c_2 (концентриране или разреждане). Третото събираемо е *електричната работа* за преместване на един мол йони против силите на електричното поле или работата на полето, което ги премества.

Може да се покаже*), че изменението на електрохимичния потенциал $\Delta\mu^*$ при промяна на състоянието на един мол вещество (при постоянна температура и налягане) е равно на изменението на свободната енергия на Гибс на един мол Δg . В случай на n мола нейното изменение ΔG е:

$$\Delta G = n\Delta g = n\Delta\mu^* .$$

Изменението на свободната енергия ΔG , аналогично на $\Delta\mu^*$, е количествена мярка за химичната, осмотичната и електричната работа на една система. При постоянна температура и налягане по знака на ΔG може да се прецени възможността за протичане на процеси в системата и да се определи тяхната посока.

Ако $\Delta G < 0$ процесите протичат спонтанно, тъй като енергията на системата намалява, превръщайки се в полезна работа. Такива процеси се наричат *екзергонни*. Тогава химичната работа се състои в разлагане на химични съединения, осмотичната - в намаляване на концентрацията на разтвор чрез дифузия, а електрична-

*) Вж. Физикохимия, Д. Михайлова, 1994 г.

та - в движение на заредени частици по посока на електричния градиент. При $\Delta G = 0$ системата се намира в термодинамично равновесие, а при $\Delta G > 0$ спонтанни процеси в нея са термодинамично невъзможни. Възможни са процеси, наречени *ендергонни*, само при условие, че в системата се внася енергия. В противен случай те могат да протичат паралелно с екзергонни процеси, от които получават енергия. Тогава се казва, че двата вида процеси са *спрегнати*.

Всички видове работа в живата клетка са резултат от ендергонни процеси, спрегнати с екзергонните реакции хидролиза на АТФ и АДФ. Необходимо условие за енергийно спрягане е сумата от измененията на свободната енергия на ендергонния процес $\Delta G'$ и на екзергонния $\Delta G''$ да остане отрицателна:

$$\Delta G' + \Delta G'' < 0, \text{ т. е. } \Delta G' < |\Delta G''|. \quad (2.5)$$

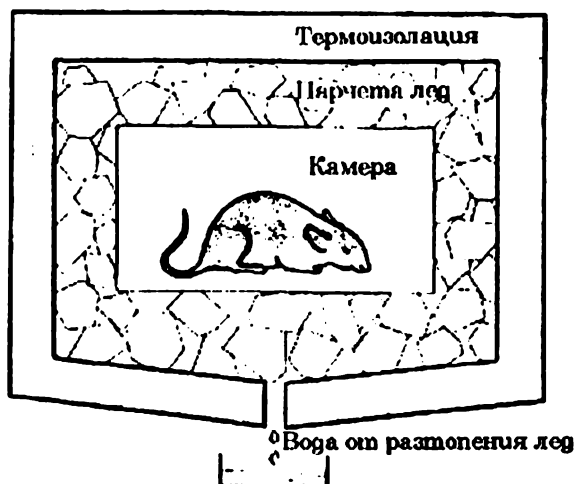
Спрягането на процесите в клетката се извършва от създадени в хода на еволюцията специални енергопреобразуващи ензимни комплекси, свързани с мембраните.

§ 2.4. Валидност на принципите на термодинамиката при живи системи

За да се докаже валидността на *първия принцип* на термодинамиката за живи организми е необходимо да се има предвид, че организъмът не е самостоятелен източник на енергия и да се докаже, че извършваната в него работа е равна на енергията, получена при окислението на приетите хранителни продукти. За определянето на тази работа е достатъчно да се измери отделеното от него количество топлина, тъй като всички видове работа в организма се превръщат в крайна сметка в топлина (фиг. 2.1).

Първите опити в това отношение са проведени още през 1780 г. от Лавазие (A. Lavoisier) и Лаплас (P. Laplace). Те измерват количеството топлина и CO_2 , отделени от морско свинче в леген калориметър след приемане на определена храна (фиг. 2.2). Същото количество храна изгарят в калориметрична бомба до CO_2 и установяват, че окислението в организма и прякото изгаряне на едно и също вещество дават почти еднакъв топлинен ефект и CO_2 . Всички

следващи измервания, проведени досега по този метод (пряка калориметрия) с все по-съвършени калориметри, както и чрез точно определяне на обемите вдишан O_2 и издишан CO_2 (непряка калориметрия), потвърждават първоначалния извод.



Фиг. 2.2. Схема на калориметъра с лег, използван от Лавоазие и Лаплас

Дълго време е считано, че *вторият принцип* не е приложим за биологични системи. Всъщност прилагането му в отворени системи, където протичат неравновесни процеси, е свързано с редица трудности. Така например критерий за посоката на спонтанните процеси в изолирана система е намаляването на свободната енергия или нарастването

на ентропията, а крайно състояние на системата е термодинамичното равновесие. Отворените системи и на първо място биологичните обаче престават да функционират в състояние на равновесие.

Живите организми, приемайки храна, *увеличават свободната си енергия*, която използват за растеж и за извършване на работа. Това не противоречи на втория принцип, тъй като свободната енергия не може да се увеличава само в изолирани системи, а живите организми не са такива. Принципом в този случай трябва да се прилага към изолираната система, образувана от организма и околната му среда. Тогава в живата част на тази система свободната енергия може да нараства и ентропията да намалява, но само ако едновременно с това в неживата част на системата енергията намалява повече, отколкото нараства в живата ѝ част.

Аналогично се обяснява и *намаляването на ентропията* в живите системи, което като че ли също противоречи на втория принцип. Така например при индивидуалното развитие на организ-

мите (онтогенеза), както и при тяхното еволюционно развитие (филогенеза) ентропията намалява, тъй като се увеличава подредеността, свързана с диференциацията на клетки, със специализацията на клетъчни структури, с появата на по-висши организми и т. н. Растежът и развитието на организмите се съпровожда с непрекъснато отделяне в околната среда на топлина и отпадъчни продукти от окислението на хранителните вещества. Това отделяне увеличава ентропията на средата повече от онова намаляване на ентропията в организма, което се получава за сметка на приетата храна, растежа и развитието. От друга страна, както вече бе споменато, ентропийният подход към процесите е приложим само за макроскопични системи и не е коректно да бъде използван в случаи на биологични микроскопични системи, съставени от една или малък брой клетки.

Отворените (биологичните) системи при изменението си преминават през редица *неравновесни състояния*, което на свой ред води до съответно изменение на техните термодинамични параметри. Изобщо поддържането на неравновесни състояния в отворените системи е възможно само за сметка на съществуващите в тях потоци вещество и енергия. Следователно неравновесните състояния са присъщи на отворените системи, поради което *техните параметри изобщо са функции на времето*.

В резюме, биологичните системи имат *следните особености*, които трябва да се отчитат при прилагане на принципите на термодинамиката:

- те са отворени системи за потоци на вещество и енергия;
- процесите в тях имат необратим характер;
- те се намират в неравновесни състояния;
- те са хетерофазни, структурирани, като някои от фазите им могат да се състоят от малък брой частици.

Поради тези особености биологичните системи се разглеждат в неравновесната термодинамика, която описва процесите в зависимост от времето.

§ 2.5. Изменение на ентропията в отворена система

Изходно положение в термодинамиката на необратимите процеси е, че изменението на ентропията на отворена система dS е сума от две независими части :

$$\boxed{dS = dS_i + dS_e} \quad . \quad (2.6)$$

Частта dS_i е изменението на ентропията вследствие на вътрешни необратими процеси, а частта dS_e - изменението ѝ поради обменни процеси с околната среда*). Този нов израз за ентропията е по-общ и не противоречи на класическата термодинамика. Така неравенството на Клаузиус (1.3) е пряко следствие от него, тъй като за изолирана система $dS_e = 0$ и $dS = dS_i$. Но $dS_i \geq 0$ при обратими или необратими вътрешни процеси и изменението на ентропията отново се свежда до $dS \geq 0$.

Зависимостта на ентропията на отворената система от времето t дава възможност от (2.6) да се получи и нейното изменение с времето:

$$\boxed{\frac{dS}{dt} = \frac{dS_i}{dt} + \frac{dS_e}{dt}} \quad . \quad (2.7)$$

Всяка от величините в полученото равенство представлява изменение на ентропията с времето и има смисъл на скорост на изменение на ентропията или на поток ентропия. От необратимостта на процесите вътре в системата следва, че винаги $\frac{dS_i}{dt} > 0$, поради което това събираемо се нарича скорост на възникване на ентропия или *производство на ентропия*. Другото събираемо е потокът ентропия, обменян с околната среда. Този обменен поток се нарича приток на ентропия, ако е в посока на нарастване на ентропията в системата ($\frac{dS_e}{dt} > 0$) и отток на ентропия, ако е насочен навън от системата ($\frac{dS_e}{dt} < 0$). Следователно *скоростта на*

*) За разлика от § 2.4. тук отворената система се разглежда самостоятелно, а не като част от изолираната система, която отворената система образува заедно с околната среда.

изменение на ентропията в системата е равна на алгебричната сума от производството на ентропия в нея и притока или оттока на ентропия.

В зависимост от големината и посоката на обменния поток (производството на ентропия е винаги положително) има три възможности за изменението на ентропията на системата с времето:

$$\begin{aligned} \frac{dS}{dt} &> 0, \text{ ако } \frac{dS_e}{dt} > 0 \text{ или ако } \frac{dS_e}{dt} < 0, \text{ но } \left| \frac{dS_e}{dt} \right| < \frac{dS_i}{dt}; \\ \frac{dS}{dt} &< 0, \text{ ако } \frac{dS_e}{dt} < 0 \text{ и } \left| \frac{dS_e}{dt} \right| > \frac{dS_i}{dt}; \\ \frac{dS}{dt} &= 0, \text{ ако } \frac{dS_e}{dt} < 0 \text{ и } \left| \frac{dS_e}{dt} \right| = \frac{dS_i}{dt}. \end{aligned} \quad (2.8)$$

Последният случай съответства на *стационарно състояние* на системата. При него произведената в системата ентропия точно компенсира оттока на ентропия във външната среда, така че общата ентропия на системата не се променя с времето.

Живите организми са отворени термодинамични системи, които се намират в стационарно състояние. Ако не обменят вещества и енергия с околната среда, те неотклонно ще се приближават към термодинамично равновесие. Това не става, тъй като постъпването на хранителни вещества отвън е равносилно на отток на ентропия. Както се е изразил Шрьодингер: "Организмът се храни с отрицателна ентропия". Разараждането на хранителните вещества води до освобождаване на свободна енергия, необходима на организма. Така че потокът отрицателна ентропия е необходим, за да компенсира производството на положителна ентропия (намаляването на свободна енергия) в организма в резултат на спонтанните метаболитни процеси. (Вж. (3.6) за връзката между производството на ентропия и свободната енергия и посоките им на изменение).

§ 2.6. Стационарно състояние и термодинамично равновесие

Приликата между стационарно състояние и термодинамично равновесие се състои в това, че и в двата случая парамет-

рите на системата не се изменят с времето. Но докато при термодинамичното равновесие това е резултат от отсъствието на всякакви потоци, то при стационарното състояние има постоянни потоци, които взаимно се уравновесяват. Разликите между двете състояния са представени в таблица 2.1.

Табл. 2.1. Сравнение между термодинамично равновесие и стационарно състояние

Термодинамично равновесие	Стационарно състояние
1. Липсват всякакви потоци енергия и вещество към и от средата (изолирана система): $J_i = 0$.	Има потоци енергия и/или вещество (затворена и отворена система), но те се компенсират: $J_i \neq 0, \Sigma J_i = 0$.
2. Липсват градиенти в системата.	В системата има градиенти.
3. Свободната енергия е постоянна, има минимална стойност и не е необходима за поддържане на равновесието: $dG = 0, G = G_{\min}$.	Свободната енергия е постоянна, но е по-голяма от минималната и е необходима за поддържане на състоянието: $dG = 0, G > G_{\min}$.
4. Ентропията е постоянна и има максимална стойност: $dS = 0, S = S_{\max}$.	Ентропията е постоянна, но е по-малка от максималната: $dS = 0, S < S_{\max}$.

В биологията стационарното състояние на организма се нарича *хомеостаза*. То се определя от постоянството на такива показатели като химичен състав, осмотично налягане и рН на кръвта, телесна температура и др. Стационарното състояние е присъщо не само на целия организъм, но и на всички негови клетки, тъй като в тях концентрационните и електричните градиенти, а и други физикохимични показатели, са постоянни.

Каква може да бъде продължителността на стационарното състояние на една биологична система? Да разгледаме изолираната система, образувана от един организъм и околната му среда. Организмът получава от средата храна, вода и кислород, а отделя в нея отпадъчни продукти от обмяната. Между него и средата има топлообмен. В такива условия например се намира един космонавт в космически кораб. Космонавтът е отворена система по отношение на кораба, който за него е околна среда, но тя е изолирана добре от околното космическо пространство. При стационарно състояние

($dS = 0$) цялата произведена от космонавта ентропия се изнася в кораба ($dS_s = -dS_i < 0$) и ентропията на средата нараства. Това е така, защото космонавтът отделя в кораба топлина и вещества, които имат по-голяма ентропия от употребените от него вещества, принадлежащи на средата. Стационарното състояние на космонавта ще се запази дотогава, докато хранителните вещества в околната среда не се изчерпят или необратимите процеси в неговия организъм (стареене) не доведат до нарушаване на това състояние.

Стационарното състояние може да бъде продължително, но не може да бъде вечно. Необходимо е времето за неговата реализация да се отчита по две различни скали. Едната скала е за бързи процеси, каквито са процесите на обмяната на ентропия с околната среда, а другата е сравнително бавна скала, приложима за периодите на изчерпване на запасите от хранителни вещества и/или стареене на организма. В организма се поддържат стационарни потоци на вещество и енергия в течение на много по-късо време от времето между раждането и смъртта. Самото съществуване на биосферата може да се разглежда като стационарно състояние, кратък период от необратимия процес охлаждане на Слънцето, който е несравнимо по-продължителен.

Стационарното състояние на една отворена система може да бъде близо или далече от термодинамичното равновесие, да бъде устойчиво или неустойчиво. Редица факти показват, че *биологичните системи са далече от равновесието*. Само в такива системи е възможно биологичното развитие. От това не следва обаче, че обикновената равновесна термодинамика не е приложима към разглеждането на всякакви биологични явления. Динамичните, необратими жизненни процеси протичат в организирани структури, които се изменят бавно или остават практически неизменни. Това се отнася до всички нива на биологична организация, започвайки от молекулното. *Равновесната термодинамика* е приложима в тези случаи и даже е една от основите на молекулната биофизика. *Неравновесната термодинамика* е необходима преди всичко при тълкуване на явленията от развитието - възникване на биологични структури, самоорганизация и еволюция на биологичните системи.

§ 3. НЕРАВНОВЕСНА ТЕРМОДИНАМИКА

§ 3.1. Потоци и движещи сили при взаимодействие си процеси

Известни са много на брой необратими процеси, чиито закономерности са получени феноменологично (въз основа на опита) и се изразяват с линейна зависимост между причината и следствието. Тези необратими процеси протичат в затворена или отворена система (пренася се енергия и/или вещество), която се намира в състояние близо до термодинамично равновесие. Причините, които ги предизвикват, са различни *градиенти*, а количествените характеристики на процесите са *плътностите на потоците* J_i . Плътностите на потоците и градиентите са свързани помежду си с постоянни коефициенти на пропорционалност. Примери за такива процеси и техните закономерности са:

- законът на Фурие за топлопроводността: $J_T = -k \frac{dT}{dx}$;

- законът на Ом за плътността на електричния ток: $J_E = -\sigma \frac{d\varphi}{dx}$;

- законът на Фик за дифузията: $J_D = -D \frac{dc}{dx}$ (вж. § 8.3).

В тях k , σ и D са съответните коефициенти, а $\frac{dT}{dx}$, $\frac{d\varphi}{dx}$ и $\frac{dc}{dx}$ - градиентите на температурата, електричния потенциал и концентрацията.

В неравновесната термодинамика градиентите се наричат *движещи или обобщени сили* и се означават с X_i , а плътностите на потоците, предизвикани от съответните обобщени сили - *обобщени потоци* J_i . Последните обикновено представляват скорост на изменението на съответен параметър на състоянието.

В състояние близо до равновесието движещите сили X_i са доста малки, а процесите протичат много бавно, така че потоците са твърде слаби ($J_i \sim 0$). Поради това феноменологичните коефициенти на пропорционалност, означавани с L , са постоянни или както

се казва – линейни и не зависят от градиентите. *Общият вид на зависимостта между поток и движеща сила в този случай е:*

$$\boxed{J = LX, \quad L = f(X)} \quad (3.1)$$

Особен интерес представлява случаят, когато в системата едновременно протичат няколко процеса, всеки от които се характеризира със съответни стойности на обобщения поток и движещата сила. Тези процеси могат да взаимодействат помежду си, така че потокът на всеки от тях ще зависи и от движещите сили на всички процеси. Тогава всеки поток зависи не само от своята собствена (спрегната с него) движеща сила, но и от всички останали (неспрегнати с него) сили.

Основатели на неравновесната термодинамика са лауреатите на Нобелова награда по химия Онзагер (L. Onsager, 1968) и Пригожин (I. Prigogine, 1977). Обобщавайки класическата термодинамика, през 1931 г. Онзагер получава уравненията, носещи сега неговото име, които описват едновременното протичане на взаимодействащи си процеси. В случай на два такива процеса, например топлопроводност и дифузия, уравненията имат следния вид:

$$\begin{aligned} J_1 &= -k \frac{dT}{dx} + L_{12} \frac{dc}{dx} = L_{11}X_1 + L_{12}X_2 = \sum_{k=1}^2 L_{1k}X_k, \\ J_2 &= -D \frac{dc}{dx} + L_{21} \frac{dT}{dx} = L_{21}X_1 + L_{22}X_2 = \sum_{k=1}^2 L_{2k}X_k, \end{aligned}$$

където коефициентите L_{12} и L_{21} съответстват на възможната връзка между процесите и се наричат *коефициенти на взаимност*. В общия случай, когато в системата протичат n процеса, уравненията на Онзагер се записват така:

$$\boxed{J_i = \sum_{k=1}^n L_{ik}X_k, \quad (i = 1, 2, 3, \dots, n)} \quad (3.2)$$

Според теоремата на Онзагер една отворена система се намира в неравновесно състояние, което е близо до термодинамичното равновесие, ако коефициентите на взаимност образуват симетрична матрица, т. е.

$$\boxed{L_{ik} = L_{ki}} \quad (3.3)$$

Това равенство се нарича *съотношение на взаимност* и е изпълнено в системи, за които типично състояние е стационарното. Най-общият му смисъл е, че близо до равновесието равни действия предизвикват равни ответни реакции. В случай на два взаимодействащи си процеса равенството $L_{12} = L_{21}$ показва, че приносът на втората движеща сила X_2 в неспрегнатия с нея първи поток J_1 е равен на приноса на първата движеща сила X_1 в неспрегнатия с нея втори поток J_2 .

§ 3.2. Критерий за спрягане на потоците

Спрягане на потоци се получава тогава, когато потоци, които са невъзможни по енергийни причини (ендъргонни процеси, $dG > 0$) се оказват възможни при наличие на други потоци, които характеризират екзергонни процеси ($dG < 0$).

❖ Нска една отворена система се намира в частично равновесие. Например тя е в температурно равновесие, но по отношение на химичните си компоненти е в неравновесно състояние. Изменението на ентропията на системата dS според (2.6) е сума от спонтанното нарастване на ентропията $dS_i > 0$ при необратимите химични превръщания на веществата (за извършване на работа от системата) и от изменението на ентропията dS_e в резултат от равновесния топлообмен с околната среда:

$$dS = dS_i + dS_e = dS_i + \frac{dQ}{T} ,$$

$$\text{откъдето } dS_i = dS - \frac{dQ}{T}$$

$$\text{и } TdS_i = TdS - dQ .$$

Тъй като цялата полезна работа в системата се извършва за сметка на вътрешните спонтанни химични реакции, то погълнатата топлина е $dQ = dU + pdV$ според обобщения принцип на термодинамиката. Тогава

$$TdS_i = TdS - dU - pdV . \quad (3.4)$$

По дефиниция свободната енергия на Гибс (табл. 1.3) е

$$G = H - TS = U + pV - TS ,$$

а нейното изменение при $T, p = \text{const}$ е

$$dG = dU - TdS + pdV . \quad (3.5)$$

От сравнението на (3.4) с (3.5) се получава изразът:

$$TdS_i = -dG ,$$

от който след диференциране по времето и предвид това, че $dS_i > 0$, се достига до важната зависимост:

$$\boxed{\frac{dS_i}{dt} = -\frac{1}{T} \cdot \frac{dG}{dt} > 0}. \quad (3.6)$$

Зависимостта (3.6) показва, че *производството на ентропия в отворена система при постоянна температура и налягане е пропорционално на скоростта на намаляване на свободната ѝ енергия*. Тя е произведение на потока свободна енергия $J = \frac{dG}{dt}$ и величината

$X = -\frac{1}{T}$, която може да се разглежда като обобщена сила:

$$\frac{dS_i}{dt} = X J > 0.$$

На произведението XJ може да се придаде смисъл на мощност въз основа на аналогия с механичната мощност P , която е произведение на сила F и скорост (плътност на обменен поток) v : $P = Fv$.

В случай, че системата се характеризира не само със свободна енергия, но и с други променливи, сумата от произведенията на всички обобщени сили и потоци σ е:

$$\boxed{\sigma = \frac{dS_i}{dt} = \sum_{k=1}^n X_k J_k > 0}. \quad (3.7)$$

Сумата, означена със σ , се нарича *дисипативна функция или функция на дисипация* и всички величини в нея се отнасят за единица обем. Положителната стойност на дисипативната функция е *критерий за спрягане на потоците* в неравновесна, но близка до равновесието система. Неговият смисъл е, че *невъзможните самостоятелно потоци*, които изискват повишаване на свободната енергия, могат да се *окажат възможни за сметка на други движещи сили*.

Този извод следва от това, че условието $\sigma > 0$ се отнася до сумата $\sum X_k J_k$ като цяло, докато отделни членове на тази сума могат да бъдат и отрицателни. Невъзможен според втория принцип на термодинамиката е потокът, за който $X_i J_i < 0$. В отворена система обаче той се оказва възможен благодарение на спрягането му с други потоци, за които $X_{\neq i} J_{\neq i} > 0$. В такъв случай ако

$$|X_l J_l| < \sum_{k \neq l}^n X_k J_k ,$$

$$\text{то } \sigma = \sum_{k \neq l}^n X_k J_k > 0 .$$

Положителната стойност на дисипативната функция означава, че при всеки преобразовател на енергия входната мощност трябва да превишава изходната. При повечето от биологичните процеси химична енергия се преобразува в осмотична, електрична и механична енергия, като тези процеси протичат с дисипация (разпиляване) на част от химичната енергия в топлина.

Какви са обобщените сили и обобщените потоци в случай на биологични отворени системи - клетки и организми? Това са химични системи с постоянна температура. В тях протичат химични реакции, които водят до промяна на химичния им състав и извършване на работа. Обобщен поток за една химична реакция е скоростта на реакцията v , а движеща сила - химичното сродство (афинитет) A . Може да се покаже, че и в система, където едновременно протичат няколко необратими химични реакции, всяка със собствена скорост и сродство, е изпълнено:

$$\sigma = \frac{dS_i}{dt} = \sum_{k=1}^n A_k v_k > 0 .$$

§ 3.3. Критерий за стационарно състояние близо до равновесното

В класическата термодинамика може да се предскаже посоката на спонтанните необратими процеси в изолирана система въз основа на изменението на ентропията. Те винаги протичат в посока на нарастване на ентропията, която достига максимална стойност в крайното равновесно състояние (критерий на Клаузиус).

В отворена система пълната ентропия при стационарно състояние не се изменя :

$$dS = dS_i + dS_e = 0, \text{ като } dS_i \neq 0, dS_e \neq 0 .$$

В термодинамиката на слабо неравновесните системи възниква аналогичен въпрос: има ли връзка между производството на ентропия dS_i вследствие на спонтанните необратими процеси в

системата и достигането на стационарно състояние близо до равновесното? Може ли по изменението на тази величина да се предскаже установяването на стационарно неравновесно състояние в отворена система?

❖ Да разгледаме отворена система в състояние близо до термодинамично равновесие, което означава, че потоците са твърде слаби. Нека в нея едновременно протичат два необратими процеса. За тях са в сила следните съотношения:

$$J_1 = L_{11}X_1 + L_{12}X_2,$$

$$J_2 = L_{21}X_1 + L_{22}X_2,$$

$$L_{12} = L_{21}.$$

Да приемем първоначално, че в това състояние $J_1 = 0$. За процесите топлопроводност или дифузия това означава, че не се пренася топлина или вещество. След заместване на потоците в дисипативната функция σ , тя придобива следния вид:

$$\sigma = \frac{dS_i}{dt} = X_1 J_1 + X_2 J_2 = L_{11}X_1^2 + 2L_{12}X_1X_2 + L_{22}X_2^2 > 0.$$

Интерес представлява частната производна на σ по X_1 при постоянно X_2 , тъй като стационарното състояние, за което $J_1 = 0$, се установява в резултат от изменението на X_1 :

$$\frac{\partial \sigma}{\partial X_1} = 2(L_{11}X_1 + L_{12}X_2) = 2J_1 = 0.$$

Анулирането на първата производна доказва, че функцията $\sigma(X_1, X_2)$ има екстремум. Втората производна

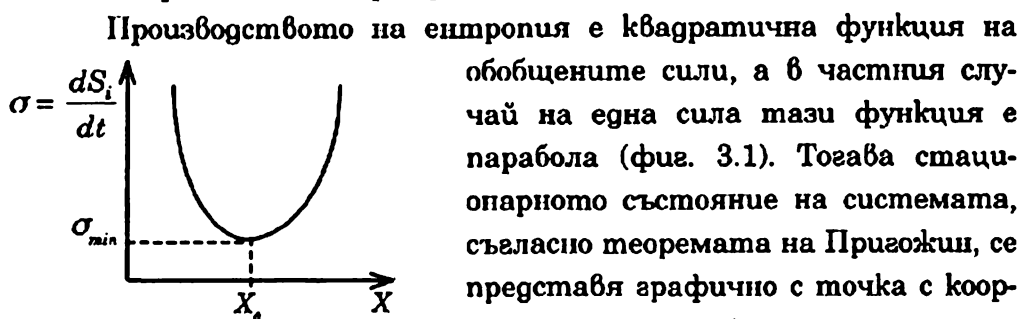
$$\frac{\partial^2 \sigma}{\partial X_1^2} = 2L_{11} > 0$$

показва *минимална стойност* за σ в зависимост от X_1 при стационарно състояние на системата близо до равновесното, когато $J_1 = 0$.

Аналогично условие за σ може да се получи, ако се приеме, че и $J_2 = 0$. Ако в системата протичат и други процеси, свързани помежду си с уравненията на Онзагер, и при тях ще се получи същият извод.

Изводът, че в отворена система, намираща се в стационарно състояние близо до термодинамично равновесие, *производството на ентропия* (в резултат от вътрешни необратими процеси) $\frac{dS_i}{dt}$ има *постоянна и минимална положителна стойност, различна от*

нула, се нарича *теорема на Пригожин*. Той има голямо значение в линейната неравновесна термодинамика.



Фиг. 3.1. Примерна графика на дисипативната функция с минималната ѝ стойност

Производството на ентропия е квадратична функция на обобщените сили, а в частния случай на една сила тази функция е парабола (фиг. 3.1). Тогава стационарното състояние на системата, съгласно теоремата на Пригожин, се представя графично с точка с координати $(X_0, \sigma_{\min})$, която лежи на върха на параболата.

От теоремата на Пригожин могат да се направят *следните изводи*:

1. Ентропията е мярка за разсейването на свободната енергия, а при стационарно състояние близо до равновесието скоростта на нарастване на ентропията $\frac{dS_i}{dt}$ е минимална, т. е. и скоростта на намаляване (разсейването) на свободната енергия $-\frac{dG}{dt}$ е минимална. Следователно стационарното състояние се поддържа с минимален приток на свободна енергия и организъмът работи в *най-изгоден енергиен режим*.

2. По изменението на $\frac{dS_i}{dt}$ може да се предскаже преходът на системата в крайното стационарно състояние, тъй като изведената от стационарно състояние система ще се изменя, докато $\frac{dS_i}{dt}$ достигне минимална стойност. Принципът за минималната стойност е количествен критерий за определяне посоката на спонтанните изменения в отворена система, т. е. той е *критерий за нейната еволюция*.

3. Системата не може да излезе от стационарното състояние самостоятелно, за сметка само на вътрешните необратими процеси. Ако все пак тя се отклони от него, вътрешните процеси протичат така, че водят до намаляване на $\frac{dS_i}{dt}$ и до връщане в

стационарното състояние. Това свойство на системата се нарича *автостабилизация*. Постоянни във времето външни въздействия могат да изведат системата от едно стационарно състояние и да я приведат в друго. Примери за преходни процеси между стационарни състояния в биологични системи са адаптацията към промените на външните условия, възникването на нервен импулс, мускулното съкращение и др.

Теоремата на Пригожин разширява рязко приложимостта на линейната неравновесна термодинамика, тъй като описва точно стационарното състояние на отворени системи. Тя се прилага и към биологични системи в случаите, когато те могат да се разглеждат в стационарно състояние близо до равновесното. По принцип обаче състоянието на живите организми е далече от равновесие и въз основа на направените допускания не могат да бъдат обяснени процеси като растеж на клетки и възникване на нови структури. В силно неравновесна система трябва да се отчита принципът на Пригожин-Глансдорф, според който скоростта на нарастване на ентропията намалява.

§ 3.4. Процеси далече от равновесие, дисипативни структури

Линейната неравновесна термодинамика е валидна за състояния близо до равновесното, където има линейна зависимост между реакцията и предизвикателното въздействие. Във физиката линейната зависимост е само първо приближение, изпълнено за малки въздействия, в случая - за въздействия, водещи до малки отклонения от равновесието.

В биологията има няколко типа явления, в които се проявява нелинейност на процесите. Те са:

- праговите процеси на превключване на система от един режим в друг при достигане на някаква прагова стойност на възбуждащата сила (напр. генериране на първен импулс, мускулно съкращение);

- регулирането и контролът на поведението на клетки и организми на всички нива на организация чрез обратни връзки, какви-

то няма в линейните системи;

- периодичните промени, незатихващите трептения на параметри, характеризиращи биологичните системи на всички нива на организация (напр. ензимна активност, концентрация на метаболити, численост на популации);

- необратимото развитие, биологичната еволюция от клетката до биосферата, проявяващи се във възникването на нови структури и нова информация.

От гледна точка на нелинейната неравновесна термодинамика тук ще бъдат разглеждани последния тип явления. Под *структура на една система* се разбира начинът на организация на нейните елементи (подредеността) и характерът на връзките (отношенията) между тях. В природата има *пространствени, временни и пространствено-временни структури*. В първите е налице статична подреденост на елементите (напр. получена при кристализация), а в другите две – динамична. Живите системи се характеризират с подреденост на елементите и поведението в пространството и времето. *Формирането на структура* е възникването на нови свойства и отношения на елементите в системата.

В една изолирана система не са възможни нито фазови преходи, нито самоорганизация, тъй като в нея ентропията (съответно и неподредеността) достига своя максимум. В затворена система може да се получи статична подреденост в резултат на фазов преход при равновесни условия. Нейната свободна енергия $G = H - TS$ намалява. При достатъчно ниска температура T , когато големината на ентропията S е без значение за свободната енергия, възниква кристално подреждане.

В отворена система близо до равновесие динамично подреждане не може да се получи, тъй като съгласно теоремата на Пригожин стационарните състояния са асимптотично устойчиви. След отклонение на системата от стационарното състояние, в което дисипативната функция σ има минимална стойност $\sigma_{min} = \sigma(X_0)$ по отношение на някакъв параметър X , тя се връща в същото състояние $X = X_0$ без осцилации.

Динамично подреждане може да възникне само в отворени системи далече от равновесие, наречени дисипативни системи. Не-

обходимо условие за това е параметрите на системата да надвишат определени стойности, за да предизвикат неустойчивото състояние. Стойностите на параметрите, при които системата променя победението си, се наричат *критични стойности или точки на бифуркация*. Областта от физиката, изучаваща дисипативните системи и процесите на подреждане в тях, се нарича *синергетика*.

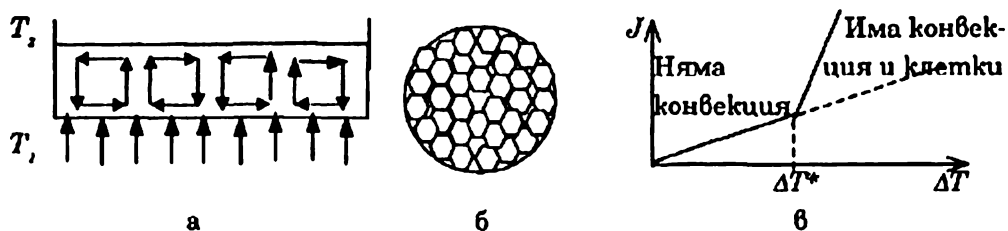
Пример за отворена небиологична система далече от равновесие, в която възниква динамична подреденост, е *лазерът*. Светлината при спонтанно излъчване е с нисък интензитет, тъй като атомите излъчват хаотично, независимо един от друг, в различни посоки и лъчението им е с различни честоти и фази. Лазерното лъчение се индуцира от външно лъчение, което има достатъчна мощност (над критичната стойност), за да предизвика едновременно излъчване на атомите и получаване на кохерентно лъчение с висок интензитет.

Динамичната подреденост при *живите организми* е следствие от оттока на ентропия от отворената система в околната среда, а не както при фазовите преходи - от намаляване влиянието на ентропията при понижаване на температурата в равновесни условия. Условията на термодинамично равновесие ($dS = 0$, $S = S_{\max}$) определят структурата на системата като най-неподредена, т. е. с най-ниска степен на организация. Образоването и съществуването на структури с по-висока степен на организация не противоречат на втория термодинамичен принцип за отворена система, тъй като ентропията може да намалява за сметка на погълната отвън свободна енергия.

Високоорганизираните живи системи в природата са неравновесни ($dS_i > 0$, $S < S_{\max}$). В тях ентропията може да намалява само ако оттокът превишава производството на ентропия (вж. § 2.5). Формирането на структура започва, когато оттокът на ентропия надвиши някаква критична стойност. Самоорганизацията е свръхкритично явление в състояние далече от равновесното, когато параметрите на системата се изменят нелинейно.

Възникване на дисипативна структура може да се наблюдава в хоризонтален слой течност, силно нагряван отдолу (фиг. 3.2).

Поради температурната разлика $\Delta T = T_1 - T_2$ между долната и горната повърхност на течността топлината първоначално се предава чрез топлопроводност. Над някаква критична стойност



Фиг. 3.2. Пример за възникване на дисипативна структура в течност а – схема на конвекционните токове, б – повърхност на течността, аледана отворе, в – зависимост на топлинния поток от температур. разлика

на тази разлика $\Delta T > \Delta T^*$ започва движение на по-силно загреитите частици на течността към горната повърхност, където се охлаждат, връщат се към долната, а след това отново отиват към горната и т. н. (фиг. 3.2 а). Тези затворени конвекционни токове оформят в течността шестоъгълни динамични структури, наречени *клетки на Бенар* (фиг. 3.2 б). Топлинният поток J в течността над ΔT^* силно нараства, но това надкритично състояние е неустойчиво - възможно с разпадане на структурите и протичане на топлообмен чрез топлопроводност (по прекъснатата линия на фиг. 3.2 в).

Клетките на Бенар са една по-организирана структура от равновесното разпределение на частиците в течността. Една *дисипативна структура възниква*, подобно на тази, при следните четири условия: системата да бъде отворена, уравненията – нелинейни, стойностите на параметрите – надкритични, а процесите в системата – кооперативни (елементите на системата да си взаимодействат по определен начин).

Тсорията на дисипативните структури има голямо значение не само за физиката, химията, биохимията, философията, но и за медицината. Тя е прилагана при изясняване на причините за сърдечна аритмия, при разглеждане на имунния отговор и имунния противотуморен контрол като кооперативно поведение на клетки, при възникване на тумори от микротумори с надкритични размери и др.

Глава II. БИОЛОГИЧНИ И МОДЕЛНИ МЕМБРАНИ

§ 4. СЪСТАВ И СТРУКТУРА НА БИОМЕМБРАНИТЕ

§ 4.1. Увод в мембранологията

- *Предмет и значение на биологичната мембранология*

Основа на живата материя са биополимерите (белтъци, нуклеинови киселини и полизахариди) и липидните асоциати. Понякога ги наричат *живи молекули*, но това не е вярно, тъй като всяка белтъчна молекула или нуклеинова киселина е толкова жива или мъртва, колкото и молекулата на което и да е друго химично съединение. Биополимерите “оживяват” само когато са разположени в определен ред в пространството, който им дава възможност да взаимодействат по определен начин. Тази пространствена подреденост, необходима за взаимодействията на биополимерите, се осигурява от биологичните мембрани.

Терминът *мембрана* се използва вече около 150 г. за означаване на клетъчната граница, която служи от една страна за бариера между съдържанието на клетката и въшната среда, а от друга страна - за полупроницаема преграда, пропускаща вода и някои от разтворените в нея вещества. Названието *плазматична мембрана* е въведено от ботаника Негели (K. von Nageli) през 1855 г., когато изследва проникването на пиаменти в растителни клетки.

Почти цялата *клетъчна патология* се дължи на увреждане на биомембраните. Познаването на състава, строежа и механизмите на увреждане на биомембраните дава възможност по-добре да се разберат молекулните основи и феноменологията на редица заболявания, а също и да се разработват методи за по-точна *диагностика* и ефективна *терапия*. Ефектът на много лекарствени средства се дължи на стабилизиране на биомембраните или на въздействия

върху техни рецептори, върху проникваемостта им и транспорта на вещества.

Голямото значение и сложността на изучаване на биомембраните са довели до оформяне на ново штердисциплинарно научно направление - *биологична мембранология*. То се основава на познания, получени при морфологични, физиологични, биохимични и най-вече при биофизични изследвания и вече е една от централните области на биофизиката. Основни проблеми в тази област са: транспорт на вещества през мембрани, свойства на възбудими мембрани, биоенергетика, рецепция и клетъчни взаимодействия.

Структурата и динамичните свойства на биомембраните се изучават с редица *методи* за определяне на химичния състав и физичните свойства на компонентите както на естествените, така и на изкуствените и реконструирани мембрани. Такива методи са: електронна микроскопия, рентгенов структурен анализ, спектроскопия (видима, ултравиолетова, инфрачервена, ЕПР, ЯМР), флуоресценция, поляриметрия, светоразсейване и др.

• *Видове мембрани*

В мембранологията се изучават не само естествени (биомембрани), но и изкуствени (моделни), и реконструирани мембрани. Според различията в състава, строежа и функциите на външната и вътрешната повърхност (т.е. на полумембраните) мембраните се делят на *симетрични* и *асиметрични*. Такива различия може да има и в латерална посока при всяка полумембрана.

Биомембраните се делят на няколко вида по различен признак:

- по цитологичен произход - на *общоклетъчни* (напр. цитоплазмени, ядрени, митохондриални, външни, вътрешни и др.) и *специализирани* (миелинови, фоторецепторни и др.);

- по степен на запазване на структурата и функциите – на *нативни (интактни)* и *модифицирани*.

Изолирането на мембрани от клетките обикновено е съпроводено с изменения в мембраните. Нативни са напълно запазените в структурно и функционално отношение мембрани, а модифицирани са променените мембрани. Степента на нативност се оценява по запазването на някои функции, напр. на ензимната активност. С допълнителни въздействия *in vivo* или *in vitro* могат да се прегу-

звукът и промени в съдържанието на някои компоненти (напр. цитохром с-дефицитни мембрани или холестерол-обременени мембрани). Модифициране *in vivo* се получава чрез промяна в условията (храна, инхибиране на синтеза на някои компоненти), чрез провокиране на патологични процеси и др. Изучаването на модифицирани мембрани е важен подход за изясняване патологията на клетката.

Изкуствените мембрани по химичен състав са липидни и белтъчнолипидни, по форма - плоски и сферични, по брой на слоевете - монослойни, бислойни, многослойни.

Реконструирани мембрани заемат междинно място между естествените и изкуствените, тъй като се получават чрез самоорганизиране на фрагменти от естествени мембрани или на изолирани от тях липиди и белтъци. Според използваните методи за разрушаване на биомембраните реконструирани мембрани се делят на *ензимни* (получени при въздействие с липази, протеази и др. ензими), *химични* (при въздействие с органични разтворители, детергенти, денатуриращи агенти и др.) и *физични* (при механично, ултразвуково, осмотично, температурно въздействие и др.) В зависимост от ориентацията на полумембраните спрямо тази на изходните мембрани, те са прави и обратни.

• *Функции на биомембраните*

Биомембраните са високоорганизиранни структури, изградени главно от липиди и белтъци. Около 80% от сухата маса на повечето клетки се състои от мембрани. Те имат жизненоважни функции, главните от които са:

а) ограничаване и разделяне (компартаментация) на клетката

Мембраната отделя цитоплазмата от околната среда, което обуславя индивидуалността на всяка клетка. Еукариотните клетки имат вътреклетъчни мембрани, разделящи всяка клетка на обособени вътреклетъчни пространства - *компарменти*. Последните заедно с техните мембрани образуват цитоплазмените органи: ядро, митохондрии, лизозоми, хлоропласти и т.н. Към вътреклетъчните мембрани спада и ендоплазматичният ретикулум (мрежа).

б) транспорт на вещества

Мембраната не е непроницаема стена, а бариера с високоизбирателна проницаемост, която има специфични молекулни пом-

ли и канали. Тези транспортни системи регулират молекулния и йонния състав на вътреклетъчната среда. Те се отличават с висока скорост и голяма ефективност, тъй като биомембраните притежават голяма повърхност. Общата повърхност на цитоплазмените мембрани в човешкото тяло възлиза на няколко десетки m^2 .

в) превръщане на енергия

В някои мембрани системи, съдържащи високоорганизирани набори от ензими и други белтъци, протичат най-важните процеси на превръщане на енергия в биологичните системи. *Фотосинтезата* е процес на превръщане на светлинната енергия в енергия на химичните връзки, а *окислителното фосфорилиране* - синтез на АТФ за сметка на окисление на органични субстрати. Първият процес протича във вътрешните мембрани на хлоропластите, а вторият - във вътрешните мембрани на митохондриите.

г) разпознаване на молекули и клетки, предаване и генериране на сигнали

Плазматичните мембрани на много тъканни клетки на животни имат от външната си страна рехава клетъчна обвивка с дебелина до 100 nm, наречена *гликокаликс*. Тя се състои от голям брой разнообразни полизахаридни, липидни и белтъчни молекули. Образуваните от тях молекулни структури могат да бъдат сравнени с антени, тъй като възприемат и разпознават външни сигнали и реагират на специфични агенти на околната среда. Към тях спадат *три вида участъци*: участъци за разпознаване и свързване на *еднотипни клетки*, рецептори за свързване на различни *хормони*, участъци за свързване на *чужди белтъци* (природни антигени, напр. антигените на кръвните групи).

С помощта на първия тип участъци еднотипните клетки се разпознават и прикрепват помежду си, образувайки структурата на специфичните тъкани. Хормоните (напр. инсулин, адреналин) са химични посредници, които определени клетки секретират в кръвта. Те регулират активността на други клетки (клетки-мишени) в някоя друга част на организма (напр. в черния дроб или мускулите) като се свързват с рецепторни участъци от повърхността им и стимулират тяхната активност в определен аспект. Свързването на чужди белтъци от съответните участъци предиз-

виква отговорни реакции на клетките и в резултат на това се развива алергия. Тези специфични участъци за тъканна съвместимост отговарят и за отхвърляне на чуждите за даден реципиент тъкани и органи след тяхната трансплантация.

Някои мембрани могат сами да генерират електрични или химични *сигнали*. Такива са клетъчните мембрани на сензорните клетки, преобразуващи светлината и звука в електрични импулси или предаващи информация на централната нервна система за температурата, налягането и т.н.

- **Основен химичен състав на биомембраните**

Съставът на всяка биомембрана е *специфичен*, тъй като е различен в зависимост от цитологичния вид, видовете тъкани и организми. Основните компоненти на биомембраните са *липиди и белтъци*. В зависимост от вида на мембраната съдържанието на липидите варира в интервала 15 - 80 % от сухата маса, а на белтъците - 20 - 85 %. Мембраните съдържат и около 10 - 15 % *въглехидрати*, свързани към молекули на белтъци (гликопротеини) или липиди (гликолипиди). За една определена мембрана съставът на основните видове липиди и белтъци е специфичен, постоянен и генетично детерминиран. Той се променя в определени граници в зависимост от възрастта, функционалното и метаболитното състояние и при патологични процеси.

Съдържанието на вода в мембраните е около 20 - 30 % от свежата им маса. Основната част от нея образува хидратна обвивка около полярните части на липидните и белтъчните молекули. Тази вода не е осмотично активна и не може да разтваря вещества. Освен нея има и свободна вода (самостоятелна течна фаза на мембраните), а понякога има и захваната вода между липидните слоеве.

§ 4.2. Молекулен строеж и физикохимични свойства на мембранните липиди

- **Принципен строеж на липидните молекули**

Липидите (липос - мазнина, гр.) са главните градивни частици, "тухлите" на мембраните. Те са група съединения с еднакви физикохимични свойства, по-точно - с ограничена *разтворимост* във

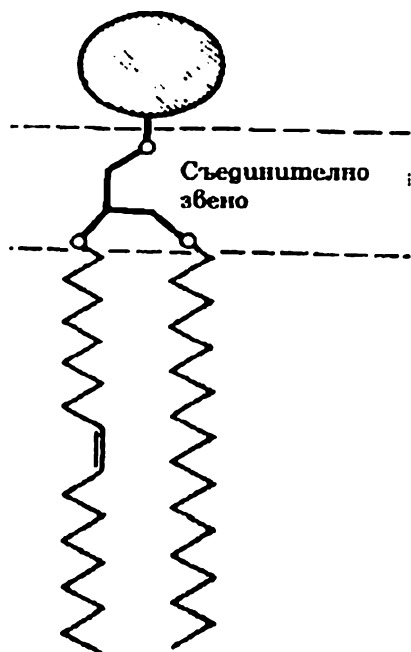
вода и полярни разтворители, но с висока разтворимост в неполярни разтворители (хлороформ, етер, бензол). Липидите имат много разнообразен химичен строеж, но специално мембранните липиди са изградени на единен принцип (фиг. 4.1).

Единият край на липидната молекула е съставен от компактни хидрофилни (разтворими във

вода) групи, образуващи *полярна глава* на молекулата. Другият ѝ край е образуван от дълги въглеводородни радикали, които имат слаб афинитет към водата (хидрофобни, неразтворими във вода), наречени *хидрофобни опашки*. Такива молекули, които имат двойно съоръжение към водата, т. е. имат едновременно хидрофилна и хидрофобна част, се наричат *амфибилни* или *амфипатични* (амфи - две, гр.). Амфибилните молекули проявяват значителна склонност към агрегация.

Съединителното звено между хидрофилната и хидрофобната част на молекулата дава името на липида в първичната класификация. Обикновено това е мастен (с отворена въглеродна верига) многовалентен алкохол, съдържащ две или три хидроксилни групи.

Хидрофилна полярна глава



Съединително звено

Хидрофобни опашки

Фиг. 4.1. Схема на строежа на липидна молекула

Ако това е глицерол, липидът се отнася към класа на *глицеролипидите* или *глицеридите*. Повече от половината липиди в природата са глицериди. Ако съединителното звено е сфингозин (аминоалкохол с дълга ненаситена въглеводородна верига), липидът е *сфинголипид*. Най-богати на сфинголипиди са нервните тъкани и особено мозъкът.

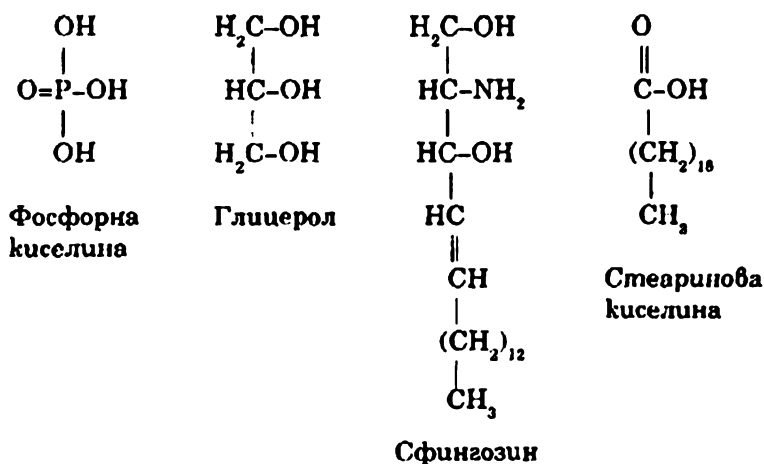
Полярните глави на всички липидни молекули са *отрицателно заредени* или електрически неутрални. Това е важно, тъй като сумарният отрицателен електричен заряд на мембраната играе съществена роля в победението на клетките.

Силите, които свързват липидните молекули в агрегати, са преди всичко *хидрофобни сили* между опашките на молекулите. Върху тях влияят и електростатичните сили между полярните им глави. Монослоеве, съставени от смес на липиди с наситени и ненаситени остатъци на мастни киселини, са по-течни от слоеве, съдържащи само наситени. Това се дължи на нарушаване подредеността на липидните молекули и има голямо значение за функционирането на биологичните мембрани. За да съществува (живее) клетката, липидите в нейната мембрана трябва да са в течно състояние.

Броят на мембранните липиди е много голям (напр. в миелиновите мембрани е около 1500), но от тях около 30 са разпространени. Те се разделят на три основни типа: фосфолипиди, аликолипиди и холестерол.

• Фосфолипиди

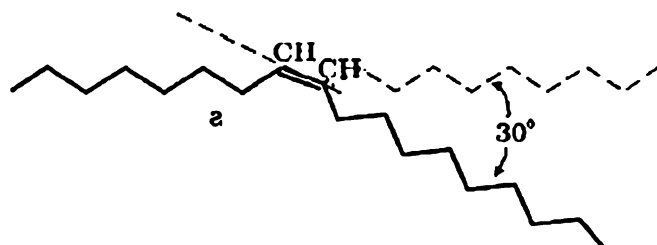
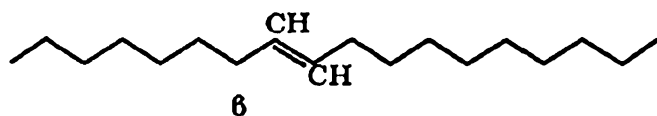
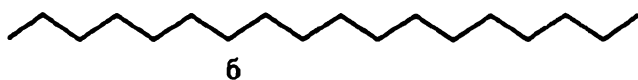
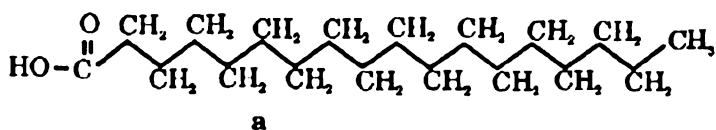
Фосфолипидите са главните компоненти на биомембраните и съставят 40 - 90 % от мембранните липиди. По строеж те са *диестери на фосфорната киселина*, в молекулата на която една от



Фиг. 4.2. Към молекулярния строеж на фосфолипидите

хидроксилните групи е естерифицирана с алицерол или сфингозин (фиг. 4.2), а друга - с едно от следните съединения: аминокиселината серин, поливалентния ароматен алкохол инозитол или алицерол.

В хидрофобната част на липидите близат висши мастни киселини с дълга неразклонена въглеводородна верига. Техните молекули обикновено съдържат четен брой въглеродни атоми, най-често 16 или 18. Те могат да бъдат наситени киселини - напр. палмитинова ($C_{16:0}$), стеаринова ($C_{18:0}$ - фиг. 4.2) или ненаситени. По данни от рентгенов структурен анализ наситените киселини имат зигзагообразна структура, в която въглеродните атоми са на равни раз-



Фиг. 4.3. Структурна формула на стеариновата киселина (а) и схеми на наситени (б) и мононенаситени въглеводородни вериги на висши мастни киселини в транс- (в) и цис-конфигурация (г)

стояния един от друг и образуват две успоредни редици (фиг.4.3 а). Ъгълът между C-C-те връзки е в границите $110 + 114^\circ$. Тази структура е приета за схематично представяне на въглеводородните остатъци в молекулата на липида, като обикновено въглеродните и водородните атоми не се означават (фиг. 4.3 б). В действителност наситените вериги

нямат линеен характер, тъй като е възможно въртене около всяка единична връзка и те могат да имат разнообразни конформации.

Ненаситените мастни киселини могат да бъдат с една (мононенаситени, моноенови) или с няколко двойни връзки (полиненаситени, полиенови) - напр. олеинова ($C_{18:1}$), линолева ($C_{18:2}$), линоленова ($C_{18:3}$) и др. Цифрите в техните означения показват отношението на броя на въглеродните атоми към броя на двойните връзки. Нена-

ситените вериги в транс-конфигурация почти не се отличават по конформация от наситените. В мембранните липиди обаче те почти винаги са в *цис-конфигурация* - веригите са огънати на около 30 ° при двойната връзка (фиг. 4.3 в, г). Цис-изомерите са по-малко устойчиви от транс-изомерите и от тези техни структурни особености, както и от дължината на веригите, в много голяма степен зависи флуидността (течливостта) на мембраната.

Към мембранните фосфолипиди спадат: фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилетаноламин (кефалин), фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол, фосфатидилглицерол (кардиолипин). Единствените мембрани сфинголипиди са сфингомиелините. Те се съдържат в мозъка и са важни съставки на миелиновата обвивка на нервните.

• Гликолипиди

Гликолипидите (гликос или глюкос - сладък, гр.) са голяма и разнообразна група липиди, при които полярната глава се състои от един или *няколко монозахаридни остатъци*. Тя е свързана чрез гликозидна връзка с глицерола или сфингозина към хидрофобната част на липидната молекула. Основни компоненти на гликолипидите най-често са глюкоза и галактоза, техни производни, сialo-ви киселини и др.

Глицерогликолипидите са основни липиди на хлоропластите и съдържат моно-, ди- и тризахаридни остатъци. Гликолипидите на животинските клетки, подобно на сфингомиелина, са производни на сфингозина. Някои от техните въглехидратни вериги придават специфичност на кръвните групи. Най-простите гликосфинголипиди са *цереброзидите*, съдържащи само един или няколко монозахаридни остатъци (галактоза или глюкоза). Галактоцереброзидите се намират главно в клетъчните мембрани на мозъка, а глюкоцереброзидите - в нервни клетки (на черния дроб, слезката и др.).

Най-сложните гликосфинголипиди са *ганглиозидите*. Техните много големи полярни глави са съставени от няколко въглехидратни остатъци (до 7) и, характерно за тях, от един или няколко остатъци на sialo-ви киселини, образуващи разклонения на верига-

та. За разлика от другите липиди те са разтворими не само в органични разтворители, но и във вода, където образуват мицели.

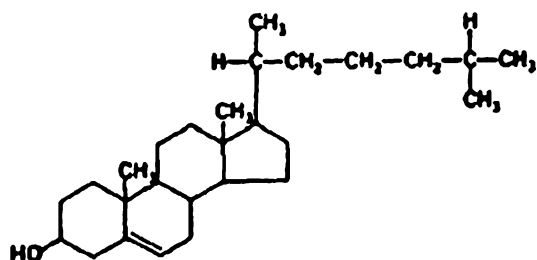
Ганглиозидите са открити най-напред в ганглиите, тъй като се намират в тези специфични участъци на нервните окончания, където се свързват молекулите на медиатора при предаване на импулса от един нерв на друг. Те се съдържат най-много в мозъка, но ги има и в други тъкани (бъбреци, слезка, черен и бял дроб). Ганглиозидите заедно с гликопротеините образуват по повърхността на клетката специфични мозаечни структури, изпълняващи ролята на рецепторни участъци. За рецептори могат да служат и техните отрицателно заредени полярни групи.

Биологичното значение на ганглиозидите все още не е напълно изяснено. Известно е, че те се локализируют в плазматичните мембрани и в значителна степен определят някои *биофизични свойства* на клетките като контактното задържане, адхезията и електрофоретичната подвижност. Счита се, че вземат дейно участие и в транспорта на йони през мембраните на нервните клетки. Те специфично *свързват токсините* на ботулизъм, холера, дифтерия, стрихнин и др. и играят определена роля в тяхната рецепция. *Малигнизацията* на една клетка, т. е. трансформацията ѝ от нормална в злокачествена, е съпроводена с промяна в състава на ганглиозидите. Количеството на ганглиозидите с къса олигозахаридна верига е значително повишено в трансформираните от вируси клетки и в клетките на тумори. Това очевидно е свързано с промяна в свойствата на клетъчната повърхност.

• Холестерол

Холестеролът се различава по химичен строеж от липидите, но има сходни с тях физикохимични свойства. Затова заедно с някои важни хормони (полови, кортикоиди) и с жлъчните киселини той се включва към групата на *липоидите*. Съдържанието на холестерол в мембраните, за разлика от съдържанието на гликولیпидите, е сравнимо с това на основните мембранни липиди и достига до 35%. Той се *намира* главно в цитоплазмените мембрани на еукариотите, докато във вътреклетъчните им мембрани се съдържа сравнително малко. В клетките на повечето прокариоти няма холестерол.

По химичен строеж холестеролът спада към *стероидните алкохоли*. Скелет на волямата му дискобидна молекула е системата от четири въглеводородни пръстена, наречена *стеран* (фиг. 4.4). В



Фиг. 4.4. Холестерол

началото на стерана (на трето място) се намира хидроксилна група, а към другия му край е свързана разклонена въглеводородна верига с 8 въглеродни атома. Следователно молекулата на холестерола има полярна алаба

(хидроксилната група) и хидрофобна опашка, подобно на другите липидни молекули. По тази причина неговата молекула се вмести добре между липидните в цитоплазмените мембрани. Като тях той е неразтворим във вода и се разтваря лесно в органични разтворители.

Холестеролът оказва *влияние върху свързването и подвижността* на липидите в мембраната. Ако към липиден монослой (вж. § 5.1) се добавя холестерол на малки порции, площта на монослоя намалява, вместо да се увеличава. Това продължава дотогава, докато концентрацията на холестерол стане толкова висока, че на всеки две молекули липид има по една молекула холестерол. Наг това съотношение площта на монослоя започва да се увеличава. Намаляването ѝ се обяснява с навлизането на една молекула холестерол между две липидни, което изправя техните хидрофобни опашки и дава възможност тези молекули да се доближат по-плътна една до друга. По този начин се получава по-добро подреждане на липидните молекули в монослоя, по-добра "опакровка". При по-голямо количество холестерол площта на монослоя нараства за сметка на площта на "излишните" за опакровка молекули холестерол.

§ 4.3. Мембранни белтъци и гликопротеини

Ако липидите са основния материал, който изгражда мембраната, белтъците изпълняват всичките ѝ специфични функции.

Затова наричат белтъците "визитна картичка" на мембраната. Те не са така добре изследвани, както липидите, тъй като изолирането им е трудно и може да доведе до промяна на някои субединици или на конформацията им, до агрегация или денатурация (нарушаване на вторичната им структура). Даниели (J. Danielli), съзателят на първия модел на мембрана, пише: "Централният и досега нерешен проблем в изясняването на мембранната структура и функции е природата на мембранните белтъци".

По химичен състав белтъците се делят на *прости и сложни*. Простите се хидролизират от киселини или основи до аминокиселини, без да дават други органични или неорганични съединения. Освен прости белтъци, плазмените мембрани на всички сукариотни клетки съдържат и сложни, в състава на които влиза и въглехидратна част. Това са гликопротеини и протеоглигани, в които въглехидратната част може да варира от под 1 % до повече от 30 %. При *гликопротеините* един монозахарид или няколко сравнително къси линейни или разклонени олигозахаридни вериги са свързани ковалентно към страничните вериги на серина, треонина или аспарагина. *Протеогликаните* са интегрални белтъци, които съдържат дълги полизахаридни вериги и заедно с въглехидратите на гликопротеините и гликолипидите образуват периферната клетъчна обвивка, наречена *гликокаликс*. В гликокаликса могат да се включват и гликопротеини и протеоглигани, които се секретира от клетките, а след това се адсорбират на клетъчната повърхност.

• *Функции на мембранните белтъци*

Според функциите си в мембраната белтъците се делят на ензимни, транспортни, рецепторни и структурни.

Ензимите белтъци променят скоростта на някои биохимични реакции. По-голямата част от мембранните белтъци са ензими и по разнообразието на ензимната активност на мембраната може да се съди за съдържанието на белтъци в нея. Така например белтъците в мислиновата мембрана са около 20 %, тъй като тя има главно изолаторна функция и ограничена ензимна активност. Други цитоплазмени мембрани имат повече ензимни функции и белтъците в тях достигат до 50 %, докато вътрешната

митохондриална мембрана е с най-висока ензимна активност и съдържа 75 % белтъци.

Транспортните белтъци осигуряват пренос на вещества през мембраната като съставна част на транспортни механизми - йонни канали и помпи. Така например трансмембраният белтък натриево-калиева помпа пренася в противоположни посоки йоните на натрия и калия срещу концентрационните им градиенти. Този белтък същевременно е и ензим, който първоначално хидролизира АТФ, а после последователно се фосфорилира и дефосфорилира, като при това променя конформацията си.

Рецепторните белтъци са гликопротеини и подобно на гликолипидите и заедно с тях изпълняват специфични функции на биологичната комуникация. Такива са рецепторните участъци за хормони, медиатори, фоторецепция, вкус, обоняние и т. н.

Структурните белтъци са силно хидрофобни и се свързват помежду си спонтанно, но със слаби връзки. Те образуват много-молекулните комплекси при различни нива на организация чак до клетъчни органели и нямат други функции. Типичен структурен белтък в еритроцитната мембрана е спектринът (вж. § 4.5). Молекулата му, съставена от 4 полипептидни вериги, е еластична, с пръчковидна форма и дължина 100 - 200 nm. Спектринът, заедно с други белтъци, изгражда върху вътрешната повърхност на мембраната своеобразна мрежа, наречена мембранен скелет. Този скелет вероятно поддържа характерната двойноудълбната форма на еритроцита, която може да се променя при преминаване през малки кръвоносни съдове и под действие на налягането в кръвта, създавано от сърцето.

• *Локализация и свързване на белтъците в мембраната*

По местоположение и начин на свързване в мембраните белтъците са периферни (външни, асоциирани) и интегрални (вътрешни).

Периферните са свързани към мембраната с електростатични сили и водородни връзки. Тези нековалентни (полярни и йонни) взаимодействия лесно могат да бъдат разрушени с методи за "мека" обработка на мембраните. Такива са екстрахирането с разтвори с висока йонна сила, изменението на pH на средата, в която

са суспендирани, свързването с калциеви йони от комплексообразователи (ЕДТА) и др.

Интегралните белтъци се намират вътре в мембраната или я пронизват изцяло (*трансмембранни белтъци*). Първите имат по повърхността си големи хидрофобни участъци, а вторите са амфифилни. Хидрофобната им част е потопена във вътрешността на мембраната, а хидрофилната е извън липидния бислой. Интегралните белтъци са свързани здраво в мембраната чрез многобройни неполярни връзки (хидрофобни, вандерваалсови) с въглеродородните вериги на липидите. Те могат да бъдат разкъсани само с органични разтворители или детергенти ("твърда" обработка). Детергентите са амфифилни вещества, които могат да изместят липидите от асоциатите им с белтъците и да образуват с тези белтъци водоразтворими комплекси. Периферните белтъци най-често се свързват към повърхността на интегрални белтъци.

Присъствието на интегрални белтъци в различни биомембрани се потвърждава от резултатите, получени с електронна микроскопия по метода замразяване - разчупване (вж. § 4.4). Вътрешната (въглеродородната) част на мембраната на еритроцита например, разкрита по този метод, съдържа плътно разположени глобуларни частици с диаметър 7,5 nm. Тези частици са молекулите на трансмембрания гликопротеин гликофорин. Неговата полярна глава е богата на захари с отрицателен електричен заряд, носен от сialови киселини. Тя съдържа антигенни детерминанти, определящи кръвните групи и участъци, свързващи някои патогенни вируси.

Локализацията на въглехидратните участъци в мембраната се определя с помощта на специфични маркери, каквито най-често са растителните белтъци лектини (конканавалин А, аектинин и др.). Лектините имат висок афинитет към специфични въглехидратни участъци. Те се виждат добре с електронен микроскоп, ако се свържат с белтъка феритин, който съдържа желязо и има висока електронна плътност. По този метод е установено, че захарните остатъци в плазматичните мембрани на клетките на бозайниците са локализирани само от външната страна на мембраната.

Възможно е въглехидратните групи да служат за ориентиране на молекулите на гликопротеините в мембраната. Те имат ярко изразени хидрофилни свойства, поради което се намират по повърхността на мембраната, а не в нейната въглеводородна сърцевина. Последното не е възможно, тъй като трябва да се преодолее енергетичната бариера, пречеща на свободното завъртане на гликопротеина от едната страна на мембраната на другата. Въглехидратните компоненти поддържат и *асиметрията на биомембраните*.

Въглехидратите на клетъчната повърхност играят важна роля и в *междуклетъчното разпознаване*. От него зависят например процесите на образуване на тъкани чрез взаимодействието между отделни клетки или разпознаването на чужди клетки от имунната система на висшите организми. Повърхностните рецептори (имуноглобулини) на В-лимфоцитите и шиповете на много вируси са извънклетъчни домени на гликопротеини.

Въглехидратите се срещат в огромен брой варианти по повърхността на клетките, тъй като имат възможност за огромно *структурно разнообразие*. Това се дължи на три причини: монозахаридите могат да се свързват помежду си с която и да е от своите хидроксилни групи; връзката на гликозидната ОН-група (при първия С-атом) може да бъде както в α -, така и в β -конфигурация; възможно е силно разклоняване на веригата. В действителност четири захари могат да образуват много повече различни олигозахариди, отколкото са полипептидите, образувани от четири аминокиселини.

§ 4.4. Мембранни модели и методи за изследване на биомембрани

Много изследователи са се опитвали да сведат различните мембранни системи към един универсален модел, който да обяснява наличните експериментални факти. С разработването и прилагането на нови методи обаче са разкривани неизвестни до тогава страни на функциите и структурата на биологичните мембрани и са създавани нови представи.

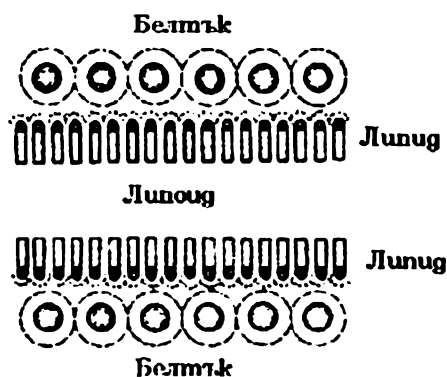
• Първи представи и модели

Още през 1899 г. Овертън (Ch. Overton) забелязва лесното преминаване на липорастворими вещества през биологичните мембрани. Първите представи за тяхната структура се свързват с неговото предположение, че мембраните се състоят от тънък слой липиди. През 1925 г. холандските изследователи Гортър и Грендел (E. Gorter, F. Grendel) откриват чрез прости опити с липиди, екстрахирани от еритроцитни мембрани, че площта на монослоя, получен от тези липиди, е два пъти по-голяма от общата площ на еритроцитите. От това те правят извода, че липидите в мембраната са разположени в *двоен молекулен слой*, при който хидрофилните им групи се намират на повърхността, а въглеводородните вериги образуват вътрешната хидрофобна област. Този извод се потвърждава от данни за високото електрично съпротивление на клетъчните мембрани (около $1000 \Omega/\text{cm}^2$), тъй като таква високо съпротивление е характерно за липидите.

Някои свойства на биомембраните (като *еластичността* и способността на някои мембрани да се свиват) могат да бъдат обяснени само ако се допусне наличието на фибриларни белтъци в тях. Освен това при измерване на *повърхностното напрежение* на големи клетки (яйце на морски шаралесж) е установено, че за техните мембрани то е много по-ниско, отколкото за липидите. Това дава основание да се предположи, че ниското повърхностно напрежение на

мембраната се обуславя от белтъчни слоеве, покриващи липидните ѝ компоненти. Действително при добавяне на малко белтък към моделна липидо-водна система повърхностното напрежение значително се понижава.

Анализирайки тези данни, Даниели и Давсън (J. Danielli, H. Davson, 1935) предлагат

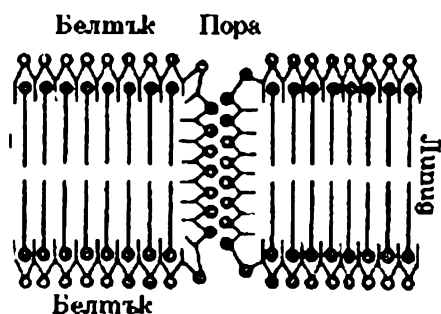


Фиг. 4.5. Модел на Даниели-Давсън

ларчат модел, наречен *липопротеинов сандвич*, който и досега не е претърпял много съществени изменения (фиг. 4.5). Според този мо-

гел мембраната е трислойна структура, при която двойният липиден слой се намира между два слоя на *глобуларни белтъци*, образувачи граничните повърхности на мембраната с водата. Предполагането е, че белтъците са свързани с липидите чрез полярни взаимодействия, а пространството между двата липидни монослоя е запълнено с маслоподобен липоид, тъй като тогава дебелината на мембраната не е била известна.

По-късно (1956) Даниели и Стейн (W. Stein) усъвършенстват модела така, че да отразява възможността за хидрофобни взаимодействия на неполярните странични вериги на аминокиселинните остатъци с липидните молекули и да обяснява лесната дифузия на някои водоразтворими нискомолекулни



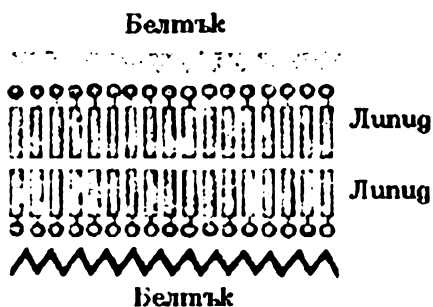
Фиг. 4.6. Модел на Даниели-Стейн

вещества през мембраната. Те предполагат, че белтъците се намират по повърхността на мембраната в *разгъната конформация*, а техните алифатни вериги частично проникват в липидния бислой (фиг. 4.6). В отделни участъци те напълно го пронизват, образувайки в него *пори*, през които могат да

преминават водоразтворими вещества.

Много нови факти, които потвърждават модела на Даниели – Давсън, са получени през периода 1936 - 1960 г. чрез рентгенов структурен анализ, поляризационна микроскопия и измервания на електричните характеристики, проникваемостта и повърхностната активност на мембраните. Развитието на техниката за получаване на ултратънки срезове от тъканни препарати за електронна микроскопия дава още по-голяма подкрепа на модела липо-протеинов сандвич. Микрофотографиите показват *трислойна структура* на мембраните с обща дебелина 6 - 12 nm, съставена от два външни потъмни слоя (с по-голяма електронна плътност) и един среден светъл слой.

Тази трислойна структура е наблюдавана на фиксирани срези при различни мембрани. Това дава основание на Робертсън (J. Robertson, 1960) да предположи,



Фиг. 4.7. Модел на Робертсън

че всички клетъчни мембрани - и плазматични, и вътреклетъчни - са изградени на единен принцип и да въведе концепцията за унитарната (еднообразната) мембрана. Моделът, предложен от него, прилича много на модела на Даниели - Стейн, но отразява

още една важна структурна особеност - *асиметрията* на двете повърхности на мембраната (фиг. 4.7), доказана чрез рентгенов структурен анализ.

В по-напредъшното си развитие електронната микроскопия достига разделителна способност 0,2 nm и увеличение около 10^6 пъти. Това дава възможност да се получат микрофотографии (особено на вътреклетъчни органели), на които мембраната не изглежда като непрекъсната трислойна линия, а като гранулирана структура с прекъсвания (пори) и отделни глобуларни частици. Освен това при опитите да се раздоби мембраната с помощта на детергенти се получават липопротеинови фрагменти, които отново могат да образуват мембраноподобни структури (реконструирани мембрани) след отделяне на детергента. Тези факти пораждаат съмнения в правилността на модела на Робертсън и предизвикват създаването на редица нови модели, отразяващи концепцията за глобуларна организация на биомембраните.

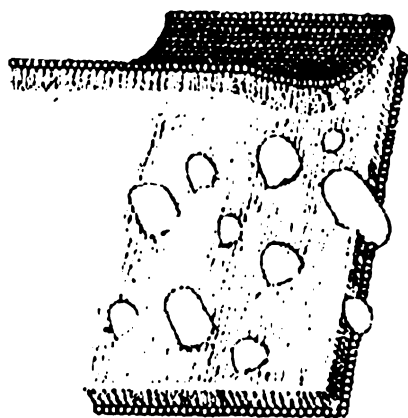
• Методи за изследване на биомембрани

За достигане до съвременната представа за структурата на биологичните мембрани съществено значение имат резултатите, получени при изследването на фрагменти от мембрани, мембранни белтъци и липидо-водни системи.

През 1963 - 1966 г. е разработен нов препаративен метод за електронна микроскопия. Той не изисква предварително фиксиране

и оцветяване на препарата и не дава артефакти, произтичащи от предварителната обработка. Прилага се в два варианта, наречени *замразяване-разчупване* (*разцепване*) и *замразяване-разяждане* (на англ. *freeze-fracture, freeze-etching*). Препаратът от клетки или фрагменти на мембрани се замразява бързо до температурата на течния азот ($-195,8^{\circ}\text{C}$) и след това се сгупва с удар на цожа на микротомом. Обикновено мембраните се разцепват надлъжно по средата на бислоя като разкриват значителна област от вътрешната част на липидния бислой (фиг. 4.8). Тази оголена повърхност се покрива с разпашен върху нея тънък слой въглерод или платина, който придобива същия релеф. След като се отдели от образца, нанесеният слой представлява точен отпечатък (реплика) на замразената повърхност и може да се наблюдава с електронен микроскоп.

Външната повърхност на мембраната се изследва като първоначално се изпарява ледът, за да се разкрие нейния релеф. В



Фиг. 4.8. Разцепване на мембрана по метода "замръзване-разчупване"

техниката този процес се нарича *разяждане* (*etching*). След това се прави реплика на разядената повърхност по същия начин, както на вътрешната. Съчетаването на двата варианта на метода дава възможност да се получи картина както на вътрешната част на мембраната, така и на двете ѝ външни повърхнини.

Повърхностите на разцепените части на много мембрани изглеждат на микрофотографиите като хомогенна матрица с голям брой неправилно разпръснати вътремембранны частици (фиг. 4.9). Косвени данни показват, че тези частици имат белтъчна природа. Картината дава представа, че мембраната е сложна мозайка, съставена от липиден бислой, в който са вградени много мембранны белтъци - някои от тях са частично потопени в бислоя, а други го произлизат изцяло.

Повечето мембрани съдържат много и разнообразни белтъци и за точното определяне на техния брой и идентифицирането



Фиг. 4.9. Електронно-микроскопска снимка на еритроцитна мембрана

им са необходими аналитични методи с голяма разделителна способност. Слабата разтворимост на белтъците във вода затруднява много тяхното отделяне и пречистване. Мембраните се привеждат в разтворено състояние (солубилизация) чрез обработка с разрушаващи агенти (детергенти) – бутанол, тритон X, натриев додецилсулфат (НДС) и др. След това мембранните белтъци се разделят на фракции с помощта на електрично поле (електрофореза), йонообменна или течна

хроматография, гел-филтрация и др. методи.

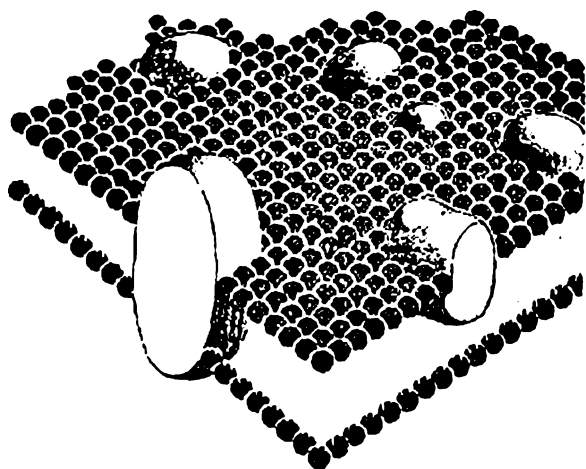
Разработването на метода за разделяне на мембранны белтъци чрез солубилизиране в детергента НДС и електрофореза в полиакриламиден гел (вж. § 4.5 и § 14.6) е втората решаваща крачка в изследването на мембранната структура (1967-1969 г.). Мембранните белтъци не се различават по аминокиселинен състав от обикновените водоразтворими белтъци, но характерна особеност на техните полипептидни вериги е последователността на хидрофобните и хидрофилните аминокиселинни остатъци.

Третото важно събитие за изясняване на мембранната структура е откриването на *фазовия полиморфизъм* на липидоводните системи от Луцати (V. Luzzati, 1968) и фактът, че много мембранны липиди при физиологични температури се намират в течнокристално състояние (вж. § 6.3). Във водна среда мембранните липиди могат да образуват много на брой различни бислойни и небислойни структури (*полиморфни модификации*) и мезофази в зависимост от химичната им структура, температурата, свойствата на водната среда и др. Мезофазите са различни междинни (стабилни, метастабилни и преходни) течнокристални състояния на липидоводните системи, които се получават над температурата на

фазовия преход. Идеята за течливост (флуидност) на липидния бислой създава нова представа за мембраната като подвижна, динамична система, притежаваща свойства и на двумерна течност, и на кристал. Тази идея се потвърждава експериментално при измерване на скоростите на латералната дифузия на липиди и белтъци в биологични и модели мембрани (вж. § 6.1).

• Съвременна представа

Въз основа на натрупаните нови факти Сингер и Никълсън (S. Singer, G. Nicolson, 1972) предлагат нов модел на молекулната организация на биомембраните, наречен *течно-мозаечен* (фиг. 4.10).



Фиг. 4.10. Модел на Сингер-Никълсън

разглеждащи мембраните като системи от твърдо фиксирани елементи, *течно-мозаечният* модел представя мембраната като "море" от течни липиди, в което плуват белтъчни "айсберги". В зависимост от здравината на връзката с мембраната белтъците при този модел се разделят на два вида - периферни и интегрални.

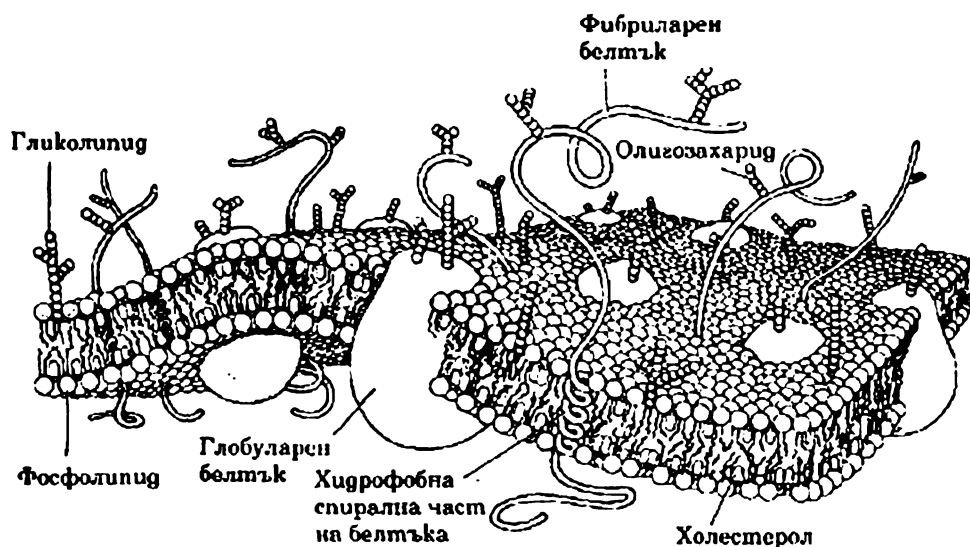
Течно-мозаечният модел е общоприет, но въпреки това той представя една сложна и разностранна система (каквато е биологичната мембрана) опростено и схематично. Един от основните постулати на модела е предположението за свободно движение на липидните и белтъчните молекули. По-късно става ясно, че не всички липиди и белтъци могат да се преместват свободно, а в някои случаи тяхната *подвижност е силно ограничена*. При много

Според него структурна основа на биомембраните е липидният бислой с вискозитет на растително масло, в който въглеводородните вериги на фосфолипидните молекули се намират в течнокристално състояние. В бислая са потопени белтъчните молекули, способни да се придвижват в мембраната. В противоположност на предишните модели,

мембрани интегралните белтъци са фиксирани поради висока концентрация или агрегация на белтъци, поради образуване на липидни домени около тях или поради взаимодействия с цитоскелет, образуван от вътрешни структури на клетката.

В някои мембрани разпределението на липидите по повърхността им не е хомогенно, както трябва да се очаква в случай на свободна дифузия. За да изпълняват векторни функции, клетъчните мембрани трябва да са *асиметрични*, т. е. външната и вътрешната им страни да се различават по състав. В създаването на тази асиметрия участвуват както липидни, така и белтъчни компоненти. *Асиметрията на липидите* е относителна, тъй като едни и същи липиди могат да се намират и във външния, и във вътрешния монослой, но с различна концентрация. В модела на Сингер и Никълсън се подразбира, че асиметричното разположение на липидите се запазва, ако техните молекули извънредно бавно преминават от едната страна на мембраната на другата. По-нови изследвания обаче показват, че това може да става доста бързо (с полупериод 1 - 2 min).

Сега се счита, че *интегралните белтъци* могат да имат



Фиг. 4.11. Съвременен модел на биологична мембрана както алобуларна структура, така и конформация на α -спирала (фиг. 4.11). Те са *гликопротеини*, а техните олигозахаридни вериги,

както и на гликолилипидите, се намират винаги от външната страна на мембраната. Това разположение и еднопосочното действие на някои мембранни транспортни системи (помпи) са *други две страни на мембранната асиметрия*. Тя води до функционални различия между двете повърхности на мембраната и вероятно се контролира по генетичен път.

Два основни фактора могат да влияят на мембранната асиметрия. Единият е обмяната на веществата, тъй като в мембраната непрекъснато постъпват новосинтезирани молекули, а част от наличните се разграждат и това става с различна скорост от двете ѝ страни. Другият фактор са различни физични взаимодействия (електростатични, вандерваалсови и др.) на мембранните компоненти помежду им и с обкръжаващата ги среда, които могат да доведат до асиметрично разпределение на липидните молекули.

Освен белтъците във фосфолипидния слой са потопени и молекулите на *холестерола*, които са твърди и по-къси от липидните молекули. Те поддържат сравнително неподвижни и подредени тези части от опашките на фосфолипидите, които са по-близо до полярните им глави, докато по-отдадените части на техните опашки могат свободно да изменят положението си.

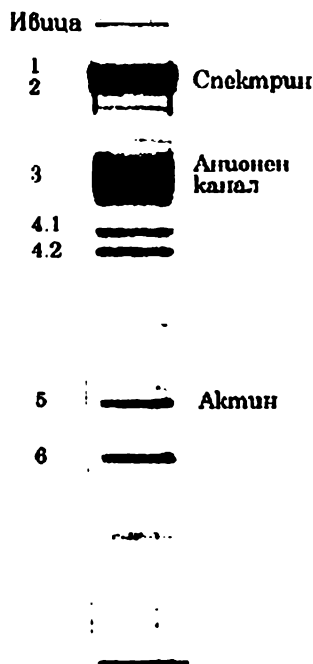
Съвременният етап на изследванията по молекулна организация на биомембраните се характеризира с преход от общи схеми към детайлни "топографски карти" на конкретни мембранни системи, отразяващи подвижността на отделните компоненти, тяхното взаимно разположение и специфичните взаимодействия в мембраната.

§ 4.5. Еритроцитна мембрана

Еритроцитите се използват като обект за изследване на свойствата на различни биомембрани, тъй като в сравнение с други клетки са лесно достъпни и имат прост строеж. Те притежават само една мембрана (плазматичната) и нямат клетъчни органели. Чисти еритроцитни мембрани, наречени *сенки* или *гостове*, могат да се получат при спукване на мембраната и изливане на цялото плазмено съдържание навън, например чрез киселинна хемолiza.

• Локализация на мембранните белтъци

Мембранните белтъци на еритроцитите са изследвани по метода на аналитичната електрофореза с носител полиакриламиден гел в присъствието на анионния детергент натриев додецилсулфат (вж. § 14.6). След оцветяване на гела с кумаси синьо се наблюдават повече от 10 ивици, които представляват белтъчни фракции (фиг. 4.12). Някои от богатите на захар гликопротеини, като формите на гликофорин, не се виждат добре при това оцветяване.



Фиг. 4. 12. Белтъчни фракции от еритроцитна мембрана

Локализацията на белтъците е установена по начина им на екстракция от мембранните фрагменти. Намерени са 6 периферни белтъка (ивици 1, 2, 4.1, 4.2, 5 и 6), които не се получават при третиране на нативни еритроцити с протсази, а се появяват само при третиране на разкъсани мембрани (гостове). Това показва, че тези белтъци са разположени от цитозолната (вътрешната) страна на мембраната. За разлика от тях белтъкът ивица 3 и другите ивици на гликопротеини (различни форми на гликофорин) са отделени от мембраната само с помощта на детергенти или органични разтворители и това означава, че са интегрални белтъци. Този извод е потвърден от електронномикроскопски изследвания по метода замразяване-разтупване, който е показал, че някои белтъци са

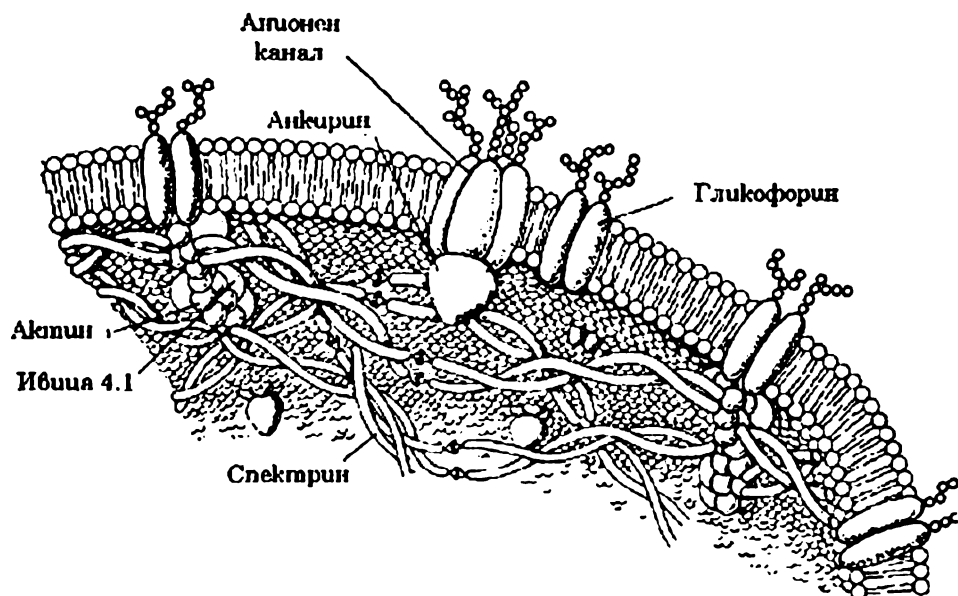
погребени дълбоко във въглеводородната част на липидния бислой. Белтъкът ивица 3 се нарича още анионен канал, тъй като през него става обмяната на бикарбонатния (HCO_3^-) с хлорния (Cl^-) анион.

• Молекулен строеж и функции на някои периферни белтъци и трансмембрални гликопротеини

Ивиците 1 и 2 са димерната и мономерната форми на структурния белтък *спектрин*, съставляващ 20 % от масата на всички белтъци в еритроцитната мембрана. Той е главната съставна

част на една мрежа под мембраната (наречена *мембранен скелет*) (фиг. 4.13), която осигурява механичната стабилност и еластичността ѝ. Тя е необходима на еритроцита, тъй като през времето на живота си (120 дни) той изминава около 500 km. Голяма част от този път е през стеснения, където му действат значителни сили и предизвикват големи промени в неговата форма.

Молекулата на спектрина се състои от една α - и една β -



Фиг. 4.13. Предполаган модел на еритроцитна мембрана

вериги, осукани една около друга във вид на еластична пръчка с дължина около 100 nm. Краищата на две такива вериги се свързват помежду си и образуват тетрамер с дължина 200 nm. Спектринът не се свързва направо към мембраната. Вътрешният периферен белтък анкирин свързва напречно β -веригата на спектрина към цитозолния N-край на анионния канал. Двете спектринови вериги се свързват към цитозолната страна на гликофорина с други два периферни белтъка - ивица 4.1 и ивица 5 (актин).

Дефекти в молекулния строеж на спектрина, на ивица 4.1 и на други компоненти на еритроцитната мембрана са открити при някои генетични заболявания, водещи до аномална форма и намалена механична стабилност на еритроцитите. Показателен пример за това е хемолитичната анемия при мишки, в резултат на която

еритроцитите придобиват сферична форма (сфероцити), а не са с биконкавна. Освен това техните мембрани са толкова слаби, че части от тях се отделят спонтанно под формата на мехурчета. Спектринът е само 5 % от нормалното съдържание и внасянето му лекува този дефект.

Гликопротеинът ивица 3 пресича мембраната и излиза от двете ѝ страни. Той е еднична верига, съставена от два домена, които могат да бъдат разделени чрез протеолитично разцепване. Хидрофилният домен е от цитозолната страна на мембраната и съдържа свързващ център за анкирина и някои цитозолни протеини. Вторият домен съдържа външната част от външната страна на мембраната и изпълнява ролята на анионен канал за обмяна на бикарбонатния и хлорния йони. Той има съществено значение за транспорта на CO_2 от кръвта в еритроцита и за поддържане на постоянна стойност на рН в него. Всеки еритроцит има около 10^6 йонни канали, което е около 30 % от общата маса на мембранните белтъци.

Гликофоринът е трансмембранен гликопротеин с добре изучена структура и топография, но не и с напълно изяснени функции. Предполага се, че глобуларните структури, наблюдавани по метода замразяване-разчупване (фиг. 4.9), са предимно молекули на гликофорина. Гликофорин А е еднична полипептидна верига с 16 олигозахаридни единици, носещи около 100 захарни остатъци. От това произлиза и неговото име (носец захар - гр.), тъй като те са около 60 % от молекулната му маса. Посредством протеолитично разпадане и химични изследвания е установено, че той се състои от три части. Екстрацелуларната е богата на захари хидрофилна глава, стърчаща над мембраната във вид на храст. Тя съдържа антигенни детерминанти, определящи кръвната група и участъци, свързващи някои патогенни вируси. Към външните остатъци са свързани сиалови киселини, на които се дължи отрицателния електричен заряд и силно хидрофилната анионна обвивка на мембраната. Средната част на молекулата е хидрофобна, нагъната в α - спирала и потопена във външната част на липидния бислой. В цитоплазмата излиза хидрофилна опашка от 40 аминокиселини (някои с електричен заряд), която като че ли закопва белтъка в мембраната.

§ 5. МОДЕЛНИ МЕМБРАНИИ СТРУКТУРИ

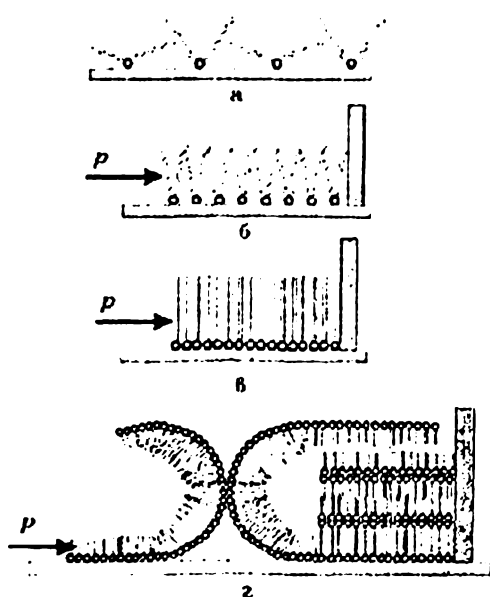
§ 5.1. Липидни асоциати

Във водни разтвори и на разделителната граница вода/въздух липидите образуват гигантски агрегати (асоциати), които донякъде наподобяват биологичните макромолекули. Затова липидите се разлеждат наред с белтъците, нуклеиновите киселини и въглехидратите в така наречената “голяма четворка” на биополимерите. Това обаче трябва да се приема условно, тъй като разликата между полимери и асоциати се определя от силите, които свързват техните звена. Мономерите се свързват помежду си в полимери с валентни връзки, а молекулите в асоциати - с междумолекулни (ван-дерваалсови и гр.) сили. Най-известните липидни асоциати са мономолекулните ципи (монослоеве), мицелите и бимолекулните слоеве (бислоеве).

• Монослоеве

Монослоевите се образуват на разделителната граница

вода/въздух или вода/масло, след като върху водната повърхност се капне разтвор на липид в летлив разтворител. След изпарение на разтворителя се получава ципа с дебелина, приблизително равна на дължината на липидните молекули, в която полярните глави на молекулите са обърнати към водата, а въглеводородните им вериги - към въздуха. При липса на ограничения липидната ципа заема максималната възможна площ и представлява система, аналогична на двумерен газ. Липидните молекули се преместват свободно по водната повърхност, без да си взаимодействат



Фиг. 5.1. Състояния на липиден монослой върху водна повърхност: а) двумерен газ, б) двумерна течност, в) кондензиран монослой, г) колапс

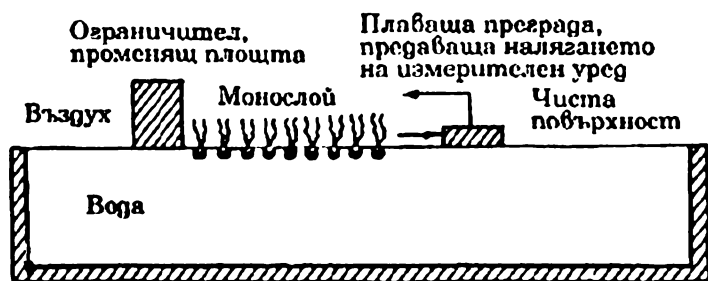
(фиг. 5.1 а, фиг. 5.3 а).

При постепенно свиване на монослоя се увеличава повърхностното налягане p , което се дефинира като разлика между повърхностното напрежение α_0 на чистата вода и повърхностното напрежение α на водата с монослой:

$$p = \alpha_0 - \alpha.$$

Плътността на монослоя нараства, молекулите му започват да си взаимодействат и върху водната повърхност се образува непрекъснатата липидна ципа в състояние на течен монослой или *двумерна течност* (фиг. 5.1 б, фиг. 5.3 б). По-нататъшното свиване на монослоя води до плътна опаковка на липидните молекули, при която полярните глави се доближават една до друга, а въглеводородните вериги се изправят във въздуха, но запазват определена подвижност. Това състояние се нарича *кондензиран монослой* (фиг. 5.1 в, фиг. 5.3 в). Ако повърхностното налягане се увеличава още повече, кондензираният монослой става твърд, практически несвиваем, а всяка липидна молекула заема минимална площ. След превишаване на някаква гранична стойност на налягането ципата започва да се разрушава, тъй като молекулите на монослоя се качват една върху друга (състояние на *колапс*) (фиг. 5.1 г, фиг. 5.3 г).

Зависимостта между повърхностното налягане p (в N.m^{-1}) и площта на монослоя може да се измери със специално устройство (фиг. 5.2), наречено *везна на Лангмюр* (I. Langmuir). В него монослоят е ограничен от едната страна с подвижна преграда, чрез която може да се менят неговата площ. От другата му страна лека плаваща

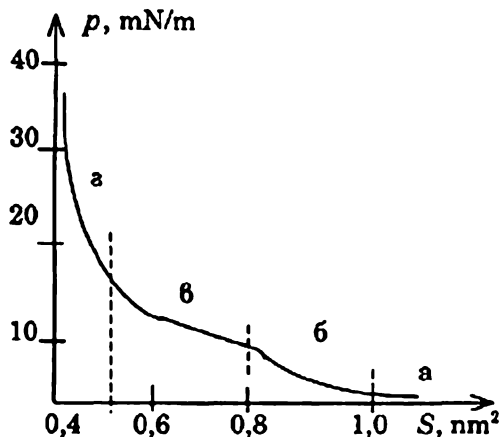


Фиг. 5.2. Везна на Лангмюр

преграда е свързана с уред, който измерва повърхностното налягане p , предавано върху нея при свиване на монослоя. Обикновено

налягането се представя графично в зависимост от площта S , заемаща от една молекула (фиг. 5.3). Ако S_0 е минималната възможна площ на молекулата при пълно свиване на монослоя ($p \rightarrow \infty$), то

$$S = S_0 + \frac{b}{p}.$$

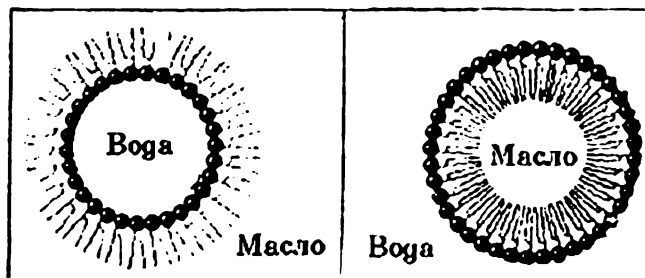


Фиг. 5.3. Зависимост между повърхностното налягане и площта на една липидна молекула в монослоя

та, заемаща от една молекула, по повърхностното налягане и електричния потенциал на монослоя може да се изследва взаимодействието на белтъци с липиди. Липидните монослоеве са първите модели на биологични мембрани.

• Мицели

Най-простите агрегати, които липидните молекули могат да образуват в обемна фаза на разтворителя, са мицелите. В зависимост от природата на разтворителя мицелите могат да бъдат



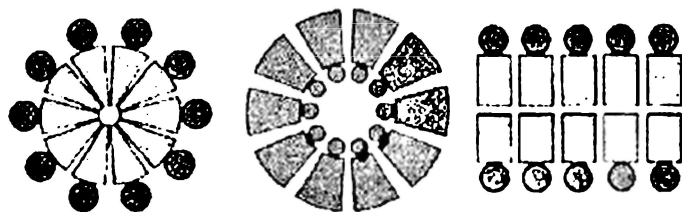
Фиг. 5.4. Обикновен и обърнат мицел

нормалните вериги образуват хидрофобно ядро, изолирано от водното обкръжение. Обърнатите мицели се получават в неполярни разтворители като бензол, хексан и др. - полярните глави оформят

обикновени или обърнати (фиг. 5.4). В обикновените мицели хидрофилните глави на липидните молекули са обърнати към водната фаза, а въглеродород-

централната хидрофилна област, а хидрофобните вериги са насочени към разтворителя.

Молекулният строеж на липидите и главно размерите на



Фиг. 5.5. Връзка между формата на липидните молекули и видовете асоциати, които образуват

полярната и неполярната част на молекулата са съществени за способността на липидите да образуват мицели (фиг. 5.5). Във вода лесно

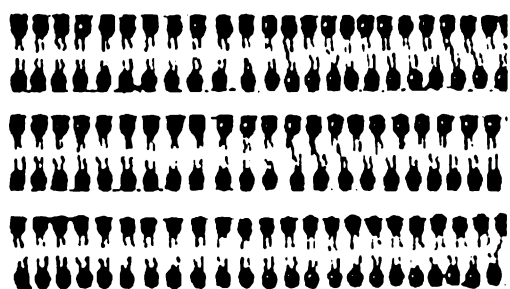
правят мицели онези липиди, които имат обемиста полярна глава и/или сравнително незалеми въглеводородни вериги (молекулата е с форма на обърнат конус). Малкият обем на полярните глави, неутрализацията на зарядите им, както и наличието на масивни въглеводородни вериги (молекулата е с форма на конус) спомагат за образуването на обърнати мицели в неполярни разтворители.

Фосфолипиди, които не могат да образуват мицели във водна среда (напр. фосфатидилхолин), могат да ги образуват, след като се смесят с повърхностноактивни вещества. Смесени мицели се получават лесно в присъствието на *детергенти*. Мицелите от смеси на соли на жлъчни киселини и фосфолипиди имат форма на диск, в който молекулите на жлъчните киселини са разположени по периферията, а фосфолипидите - в централната му част. Мицелобразуването играе много важна роля в процесите на *храносмилането*. Солите на жлъчните киселини, постъпващи от жлъчния мехур в дванадесетопръстника, превръщат неразтворимите във вода хранителни мазнини във финодисперсна емулсия. Това ги прави достъпни за разграждане от липолитичните ензими и облекчава всмукването на продуктите от хидролизата в тънките черва.

• Бислоеве

За онези липиди, които не могат да образуват мицели във вода, термодинамично най-изгодната форма за асоцииране е бимолекулният слой (бислой). По принцип бислой лесно образуват липиди, за които площта, заемана от полярната глава и напречното сечение на въглеводородните вериги се различават малко, т. е.

молекулата има форма на цилиндър (фиг. 5.5). Такова е съотношението на размерите на повечето фосфолипиди в състава на биомембраните. Агрегираните липидни молекули в бислоя са разположени в два успоредни монослоя, обърнати едни към друг със своите хидрофобни страни. Полярните групи образуват две хидрофилни повърхности, отделящи вътрешната въглеводородна фаза на бислоя от водната среда (фиг. 5.6).



Фиг. 5.6. Липидни бислоеви във вода

Във водна среда фосфолипидите и гликолипидите образуват лесно бислоеве, а не мицели и затова са основни компоненти на биомембраните. Бислоевите достигат макроскопични размери чак до милиметър, докато мицелите обикновено са малки - с диаметър под 20 nm. Освен това (въпреки течното си състояние) бислоевите се явяват бариери за проникваемостта.

Способността на липидните молекули да образуват във вода бързо и спонтанно бислоеве (*самообразуване, самоорганизиране*) се дължи на тяхната структура и се определя главно от амфипатичните им свойства. Основните сили, които осигуряват това, са *хидрофобните взаимодействия* в резултат от изтласкването действие на водата върху неполярни съединения. Освен това между въглеводородните вериги действат *вандерваалсови сили*, които ги опаковат плътно в бислоя. Между полярните глави и молекулите на водата възникват *електростатични сили и водородни връзки*, така че в стабилизирането на липидните бислове участват всички сили на междумолекулни взаимодействия в биологични системи.

На тези и на други нековалентни взаимодействия се дължат *три биологично важни свойства* на липидните бислове:

- тенденция да увеличават своята повърхност;
- способност да се затварят и да образуват ограничено пространство (компартмент), за да не оставят възможност за контакт между водата и въглеводородните вериги;

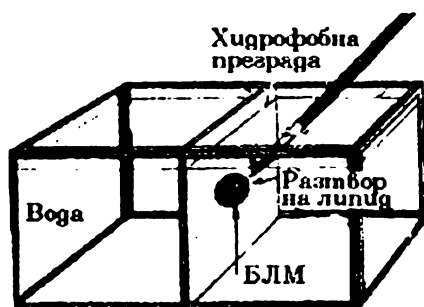
- способност да се самозапечатват, тъй като всяка дупка в бислой е енергийно неизгодна.

Хомогенна липидо-водна система се получава при по-ниско съдържание на вода (напр. 40% вода, 60% фосфатидилхолин). Тя се нарича още *многослойна* (мултиламеларна) фаза, тъй като се състои от успоредно разположени липидни бислоеве, отделени един от друг с водни слоеве (фиг. 5.6). При увеличаване съдържанието на вода системата става *двухазна*, като максимално хидратираната ламеларна фаза се разпада на фрагменти. Тези фрагменти, наречени *липозоми*, са затворени многослойни макроструктури, съставени от концентрични липидни бислоеве, разделени от изолирани водни слоеве (фиг. 5.10). При определени условия могат да се получат и еднослойни липозоми (липидни мехурчета, везикули), в които само един бислой отделя вътрешното му водно съдържание от околната среда.

§ 5.2. Моделни изкуствени мембрани

• Бислойни липидни мембрани

Бислойните липидни мембрани (БЛМ, бимолекулни, плоски, черни мембрани) са широко използван експериментален модел, който

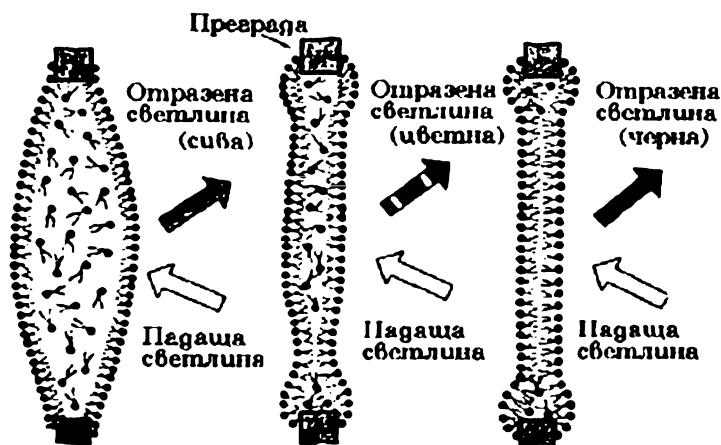


Фиг. 5.7. Метод на Мюлер за получаване на БЛМ

позволява в изкуствени условия да се възпроизведат много свойства и характеристики на биомембраните. БЛМ представлява *единичен липиден бислой*, закрепен по периметъра си към отвор в инертна преграда от хидрофобен материал (полиетилен, тефлон), разделяща два водни обема (фиг. 5.7).

Спонтанно образуване на такава мембрана е описано за първи път от американския учен Мюлер (P. Mueller) през 1962 г. Капка от разтвор на липид в органичен разтворител се нанася с четчица под вода върху отвор с диаметър 1 - 2 mm в хидрофобната преграда.

Първоначално се образува доста дебела ципа със *сив цвят* (фиг. 5.8), после поради повърхностното напрежение тя става все по-тънка и придобива последователно *различни цветове* от спектъра. Това се дължи на интерференцията на светлината,



Фиг. 5.8. Образуване на БЛМ

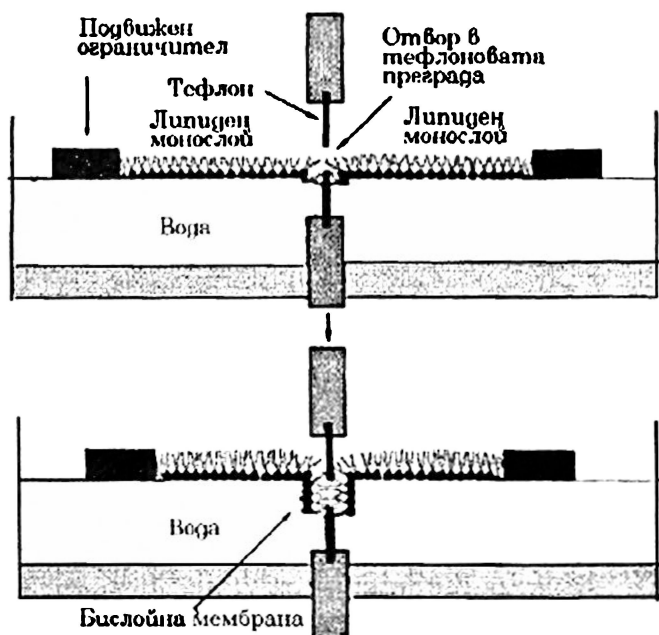
отразена от двете ѝ повърхнини, тъй като дебелината на ципата става от порядъка на дължината на светлинната вълна (600 - 100 nm). Накрая двата липидни монослоя образуват един бислой с дебелина 4 - 6 nm, който много слабо отразява видимата светлина и затова изглежда *черен*. При формиране на бислой разтворителят се изтласква към краищата на отвора, където слой се разширява, но може да се събере и в средата му, където образува микролеци.

Бислойни мембрани, несъдържащи разтворител (наречени *сухи*), могат да се получат по метода на Такаги (1965) и Монтал (1974) чрез механично допиране на два липидни монослоя, образувани на разделителната граница вода/въздух (фиг. 5.9). Предимство на този метод е възможността за получаване на *асиметрични* мембрани от изходни монослое с различен химичен състав.

Стабилността на бислойните мембрани е съществен проблем, тъй като рано или късно, а най-често в най-неподходящия момент, всяка мембрана се спуква. Времето ѝ на живот варира от няколко минути до 1 - 3 часа. Нестабилността се дължи на различни фактори: наличие на нежелателни примеси, окисление на липидите, замърсяване на постановката, неподходящ разтворител, температура.

турни колебания, вибрации, резки промени на концентрацията и вискозитета на средата и др.

Въпреки това липидният бислой има изключително висока



механична здравина и еластичност. Той издържа внимателно докосване със стъклена пръчица, огъвайки се при натиск. Деформира се под действие на механично или осмотично налягане, като променя формата си в полусферична и обратно. Може да бъде пробит с

Фиг. 5.9. Получаване на "сухи" БЛМ от два монослоя. Това показва способността на бислоя да се самозалепва.

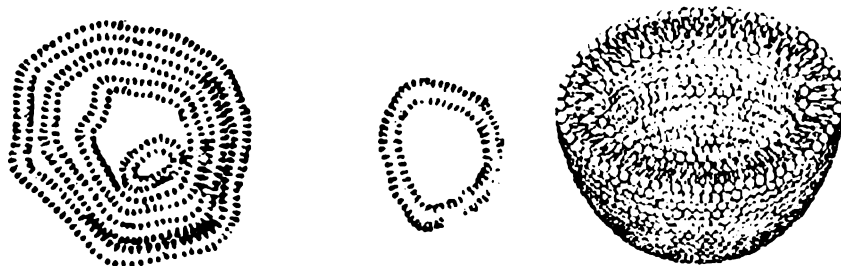
Исключително висока е устойчивостта на тези мембрани към краткотрайно действие на силно електрично поле. Електричен пробив настъпва при около $4 \cdot 10^7 \text{ V.m}^{-1} = 40 \text{ mV.nm}^{-1}$. По диелектрични свойства те не отстъпват на най-добрите известни сега изолатори - твърд парафин, порцелан, поливинилхлорид. Ако настъпи пробив, за разлика от твърдите тела, мембраната напълно възстановява функциите си след изключване на полето. Именно поради възможността за провеждане на различни електрични измервания (на електричен капацитет, проводимост, пробивно напрежение, мембранен потенциал и др.) бислойните мембрани са изигерали изключително важна роля при изучаване на йонния транспорт през биомембрани.

Нови перспективи за доближаване на БЛМ до биомембраните е включването на мембранни белтъци в тях. Това може да стане

чрез сливане на белтъкостъдържаща липозома с липидния бислой в условия на осмотичен стрес или под действие на калциеви йони и други агенти, облекчаващи сливането. Има реална възможност и за създаване на биосензорни системи на базата на бислойни мембрани.

• Липозоми

През 1965 г. английският биофизик А. Бенгхем (A. Bangham) показва, че фосфолипидите спонтанно образуват във вода мехуროобразни частици, наречени липозоми, които се състоят от множество затворени липидни бислоеве, разделени със слоеве вода (фиг.



Фиг. 5.10. Строеж на многослойна и монослойна липозома

5.10). Липозомите са използвани като моделни мембрани при изясняване на редица въпроси, свързани с молекулната организация и функционирането на биомембраните.

Делят се на *три основни групи* (в зависимост от своя размер и от броя на образующите ги липидни бислоеве):

- многослойни (мултиламеларни) липозоми с диаметър 5 - 10 μm и структура, оприличавана на структурата на луковица или зелка с десетки и стотици слоеве;
- големи еднослойни с диаметър 50 - 200 nm и по-големи;
- малки еднослойни (моноламеларни) с диаметър 20 - 50 nm .

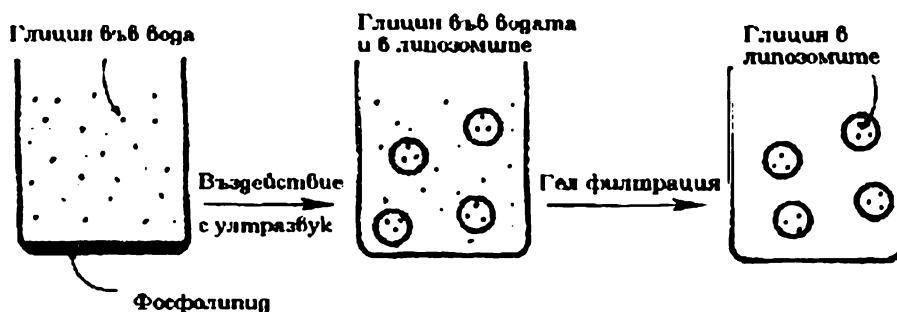
При разклащане на дисперсна система от вода и липид се получава хетерогенна суспензия от *многослойни липозоми* с размери в широк интервал. Доста хомогенна фракция може да се получи след филтриране (в зависимост от размера на порите на филтъра). Способността на фосфолипидите да образуват липозоми зависи от *температурата и м. на фазов преход*. Ненаситените фосфолипиди, които при обикновена температура са в течнокристално състояние, лесно образуват липозоми. Онези, които са с наситени мастно-киселинни вериги, образуват липозоми само при температури над

температурата на фазовия преход. Съществено значение имат размерите на молекулата и вида на полярната глава.

Голяма част от вътрешната вода на многослойните липозомы е осмотично активна и те променят обема си при промяна на концентрацията на външния разтвор, поради което са *идеален осмометър*. В хипотоничен разтвор те набъбват от навлязлата вода, а в хипертоничен губят вода от междумембранните пространства и се сбръчкват. Част от водата в липозомите остава осмотично неактивна.

Малките еднослойни липозомы могат да се получат при обработка на многослойните с ултразвук. Други методи са: инжектиране (впръскване) на алкохолни разтвори на липиди във вода, пресоване (екструзия) при високо налягане на липидо-водни дисперсни системи, отделяне на солубилизиращ детергент чрез диализа или гел-филтрация, ултрацентрифугиране и др. За разлика от многослойните, малките еднослойни липозомы не проявяват осмотична активност.

Големите еднослойни липозомы се получават подобно на малките. Те имат значителен вътрешен обем и затова проявяват осмотична активност. Тези липозомы могат да бъдат изследвани със спектрални методи, което дава възможности за определяне характеристиките на липидния им бислой.



Фиг.5.11. Получаване на съдържащи глицерин липозомы

Във вътрешния воден обем на липозомите могат да се включват различни вещества, които предварително се поставят в изходната липидо-водна фаза (фиг. 5.11). След това липозомите могат да се отделят от нея и да се суспендират в друг разтвор. Така се съз-

дават условия за обмяна на вещества между липозомите и околната им среда през липидния слой, който е дифузионна бариера. Ето защо липозомите се използват широко за изясняване на бариерната функция на липидите и за моделиране на различни транспортни процеси. Методите за *изследване проникваемостта* на липозомите се основават на пряко измерване на количеството вещество, излязло от тях за единица време или на техните осмотични свойства.

Липозомите като модел са значително по-близо до биомембрана, отколкото БЛМ, тъй като са затворени системи като тях. Това дава възможност да се изследва пасивния транспорт на йони и малки молекули през липидния бислой. Липозомите, за разлика от БЛМ, са достатъчно стабилни и не съдържат органични разтворители. Съставът на липидите в тях може да варира произволно и по този начин насочено могат да се изменят свойствата на мембраната.

Сега има и добре разработени методи за включване на функционално активни мембрани белтъци в липозом. Такива изкуствени белтъчно-липидни структури се наричат *протеолипозом*. Възможностите за получаване на реконструирани мембрани се използват за моделиране на ензимни, транспортни и рецепторни функции на клетъчни мембрани. За да се използват липозом за имунологични изследвания, в тях се вкарват антигени или към тях ковалентно се свързват антитела. Те могат да се пълнят и са удобен модел за изследване действието на много лекарствени вещества, витамини, хормони, антибиотици и др.

• *Липозомите като лекарствена форма*

В много лаборатории по света се работи интензивно за изясняване на възможностите за *медицинско приложение* на липозомите като средство за доставяне на лекарства в определени органи и тъкани, без да се въздейства на целия организъм. Интересни перспективи в това отношение има *лечението* на някои заболявания. Например при злокачествените болести липозомите ще се насочват главно към раковите клетки, при което силно активните вещества няма да действат на здравите клетки. При диабет ще се избегне инжектирането на инсулин, тъй като той ще се приема перорално с липозом без опасност от ензимно разграждане. В случаи на ензимна

недостатъчност ще се избягва също разграждането на приетите ензими и предизвиканите от това нежелателни имунни реакции. Холестеролът, отлагащ се по стените на кръвоносните съдове при атеросклероза, може да се включва в липозоми и да се извежда от кръвния ток. Освен това някои проблеми на *генното инженерство и биотехнологиите* могат да бъдат решавани, като генетичен материал (РНК, ДНК) се внася в клетки чрез липозоми.

Доставянето на лекарства на необходимото място в организма е възможно, ако липозомите "се научат" да достигат поразените тъкани. За тази цел е необходимо на външната повърхност на липозомите да се вградят *тъканноспецифични молекули (анти-тела)*, които да ги насочват към тъканите-мишени. Този проблем вече е практически решен, а освен това вече се получават липозоми, съставени от същите фосфолипиди, от които се състоят и клетъчните мембрани. Такива липозоми не са токсични и има основания да се счита, че не са подложени на атака от страна на имунната система на организма.

Все още съществуват *два проблема*. Голяма част от липозомите не може да излезе от циркулацията на кръвта, поради което за повечето от тъканите не е голяма вероятността лекарството да достигне клетките. Когато лекарството не е затворено в липозоми, а циркулира в свободна форма, то по правило дифундира през стените на капилярите в тъканите. *Липозомите са твърде големи*, за да проникват през капилярите на повечето органи.

Вторият проблем е *разпознаването на липозомите от имунната система на организма и изваждането им от циркулацията*. Когато в кръвотока се появят липозоми, циркулиращите кръвни белтъци, наречени опсонини, ги идентифицират като чужди тела и ги отбелязват, за да бъдат заловени от клетките на ретикулоендотелната система. Това са макрофаги и други активно фагоцитиращи клетки, разсеяни в лимфовъзлите, черния дроб, слезката, костния мозък, а също и циркулиращи в кръвта и лимфата. Те залавят липозомите, независимо от техния състав и размери, преди да са били в циркулация достатъчно дълго време, за да достигнат своите мишени.

Глава III. КОНФОРМАЦИОННИ ПРОМЕНИ И ПРЕКИСНО ОКИСЛЕНИЕ В МЕМБРАНИТЕ

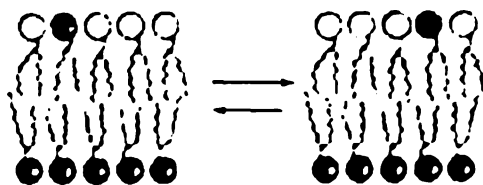
§ 6. ПОДВИЖНОСТ НА МЕМБРАННИТЕ КОМПОНЕНТИ И ФАЗОВИ ПРЕХОДИ В ЛИПИДНИЯ БИСЛОЙ

§ 6.1. Латерална дифузия на липиди и белтъци

Отделните компоненти на биомембраните извършват различни движения. Липидните и белтъчните молекули могат да се въртят около своите надлъжни оси перпендикулярно на равнината на мембраната, а въглеродородните вериги на липидите - да се огъват и люлеят в различна степен и посока. Освен това течнокристалното състояние на мембраната позволява липидите и белтъците да се преместват в нейната равнина. Това преместване се нарича *латерална дифузия*.

• Липиди

В зависимост от липидния състав, условията на околната среда и действието на различни мембранотропни агенти липидните



Фиг. 6.1. Асиметрично разпределение и латерална дифузия на липидни молекули в бислой

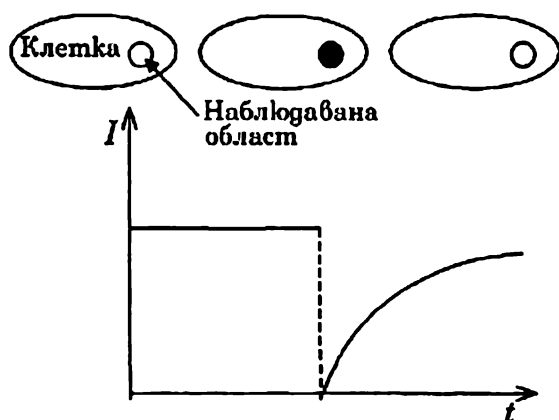
молекули могат да имат нехомогенно разпределение в бислой. Между различни домени на бислой се извършва преразпределение на липидни молекули, което показва, че те лесно мигрират по неговата повърхност (фиг. 6.1).

Мярка за скоростта на латералната дифузия е *средноквадратичното разстояние* $\bar{x} = \sqrt{4Dt}$ (8.6), където D е коефициентът на дифузия, а t - времето (вж. § 8.3). Средно за липиди на различни мембрани $D = 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$. Това означава, че молекулата дифундира за

време 1 s на средно разстояние около 2 μm , т. е. за това време тя може да се премести от единия край на една бактериална клетка до другия. Това става чрез $10^3 - 10^5$ последователни прескачания със стъпка, равна на нейния напречен диаметър (около 1 μm), а такъв е и напречният диаметър на съседните ѝ молекули. Скоростта на латералната дифузия рязко спада при преход на бислой от течнокристално състояние в кристално.

Един общ количествен метод за измерване скоростта на

Флуоресценция Гасене Възстановяване



Фиг. 6.2. Схема на метода за определяне скоростта на латералната дифузия на липиди

латералната дифузия на мембранни компоненти е определяне *скоростта на възстановяване на флуоресценцията*. За тази цел изследваният компонент по повърхността на цялата клетка се маркира с флуоресцентен хромофор (фиг. 6.2). Малка част от повърхността на клетката (около 3 μm^2), съдържаща малък брой маркирани молекули, се наблюдава с

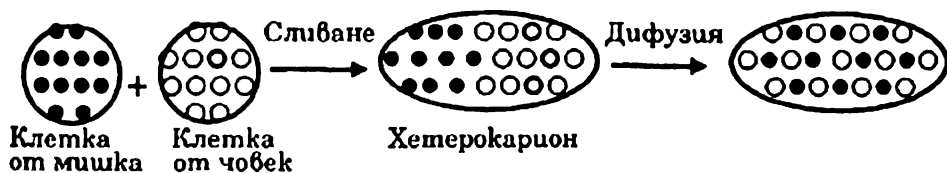
флуоресцентен микроскоп. След това флуоресциращите в зрителното поле молекули се разрушават с мощен сноп лазерно лъчение, пропуснато през обектива на микроскопа. Определя се времето за възстановяване на флуоресценцията в зрителното поле, което е възможно само ако маркираният компонент е подвижен. Тогава неговите флуоресциращи молекули ще отидат до мястото, където флуоресценцията е била загасена.

• Белтъци

Белтъците, за разлика от липидите, са *по-нееднородни по отношение на латералната подвижност*. Някои от тях са почти толкова подвижни, колкото и липидите, а други са практически неподвижни. Така например фоторецепторният белтък родопсин има

много голяма подвижност ($D = 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$), а периферният гликопротеин фибронектин - много по-малка ($D = 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$). Малката подвижност на белтъците може да се обясни със закрепването им към субмембранни цитоплазматични структури.

Бързото латерално движение на някои мембрани белтъци може да се наблюдава с флуоресцентен микроскоп. Наблюдава се хибридна клетка (хетерокарион), образувана от сливане например на култивирани клетки от човек и мишка (фиг. 6.3). За да се визуализи-



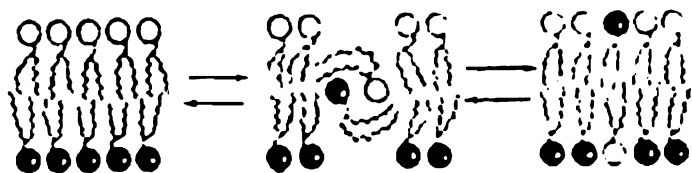
Фиг. 6.3. Схема на дифузията на белтъци в плазмената мембрана на хибридна клетка, получена от сливането на клетки на мишка и човек

рат и различават белтъците на двете клетки, се използват два вида специфични антигени, флуоресциращи с различна по цвят светлина - например червена за човешките и синя за мишките. Преди сливането на клетките техните антители (белтъците имуноглобулини) се свързват със съответните флуоресциращи антигени и придобиват тяхната флуоресценция. В новообразувания хетерокарион едната половина от повърхността свети червено, а другата - синьо. След по-малко от час (при 37°C) обаче не се наблюдават отделни части, светещи с различна светлина, тъй като мембранните белтъци на човека и мишката са се смесили в резултат на дифузията. Този опит показва, че за около 1 min мембранните белтъци могат да дифундират на разстояние от порядъка на няколко μm .

§ 6.2. Напречна дифузия на липиди

Мембранните липиди могат спонтанно да се преместват от единия монослой в другия (фиг. 6.4). Това преминаване през бислоя се нарича *напречна (трансферзална) дифузия* или за него се използва терминът *flip-flop*, тъй като прескачането на една липидна молекула в едната посока (flip) се придружава от прескачане на друга молекула в другата посока (flop).

За разлика от латералната дифузия, напречната е много бавна. Като мярка за нейната скорост се въвежда величината *полупериод на напречната дифузия*.



Фиг. 6.4. Асиметрично разпределение и флип-флоп на липидни молекули в бислой

Той се дефинира като време, за което половината от липидните молекули на единия монослой

преминава в другия. Полупериодът е от порядъка на няколко часа и даже дни. Една липидна молекула пресича бислой с дебелина 4 - 5 nm за един ден ($4 \cdot 10^4$ s), докато при латерална дифузия тя преодолява такова разстояние за около $2,5 \mu s$, т. е. 10^{10} пъти по-бързо.

Причина за изключително бавния flip-flop е неговата енергийна неизгодност, тъй като полярната глава на липидната молекула трябва да премине през хидрофобната област на бислой. В някои случаи скоростта му може да нарасне значително (полупериод от порядъка на минути) под действие на различни фактори. Такива фактори например са: по-особен стрес на липида, неустойчиво фазово състояние на бислой, присъствие на молекули, облекчаващи преноса на полярната глава през хидрофобната среда и др.

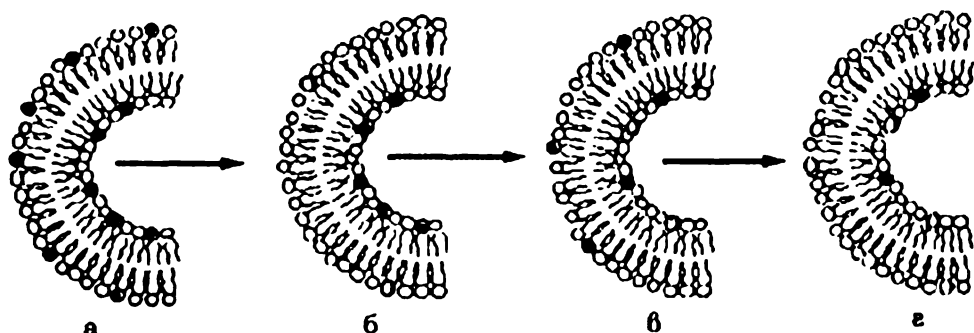
Енергийната бариера за напречна дифузия на белтъците е още по-голяма, тъй като те имат значително повече полярни участъци от липидите. Проведените изследвания досега не са доказали наличие на напречна дифузия на белтъци и това е основание да се счита, че мембранната асиметрия се дължи главно на белтъците.

Скоростта на напречната дифузия е измерена пряко за фосфолипидни молекули в липозоми от фосфатидилхолин (лецитин) чрез *електронен парамагнитен резонанс* (R. Kornberg, H. McConnell, 1971). Като спин-маркер за лецитина е използвана нитроксилната група (NO), която има отчетлив ЕПР-спектър. Този спектър изчезва, ако групата се превърне в аминна (NH_2) под действие на редуциращ агент, например аскорбат.

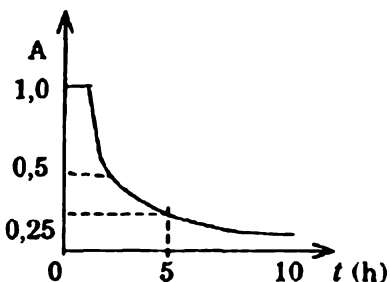
От смес на лецитин (95 %) и неговия спин-маркиран аналог (5%) са приготвени липозоми с диаметър около 25 nm. Регистриран е

ЕПР-спектърът, който се получава от маркираните лецитинови молекули в двата монослоя. След това на порции в липозомната суспензия е добавян аскорбат (фиг. 6.5). Аскорбатът не преминава през мембраната и редуцира нитроксилните групи само във външния монослой на всяка липозома, без да влияе на вътрешния.

Първата порция аскорбат намалява амплитудата на сигнала около 50 %, както е процентът на редуцираните молекули от



Фиг. 6.5. Разпределение на маркираните липидни молекули в бислой (черни на схемата) при определяне скоростта на флип-флоп с ЕПР
а) начално разпределение, б) след първата редукция, в) в резултат от флип-флоп, г) след втората редукция



Фиг. 6.6. Определяне полупериода на напречната дифузия

всички маркирани (фиг. 6.6.). След втората порция аскорбат спектърът остава непроменен няколко минути, а след това амплитудата му започва да затихва експоненциално с полупериод 5 часа. Причината за това е редуцираността на маркираните молекули, преминали от вътрешния монослой във външния поради напречна дифузия.

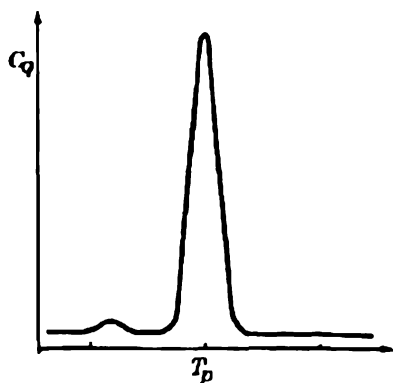
§ 6.3. Течнокристално състояние на липидния бислой

В зависимост от температурата липидният бислой може да се намира в две основни фазови състояния - във вид на твърд двумерен кристал (гел) или в течнокристално (разтопено) състояние. Често тези състояния се наричат "твърдо" и "течно" като се има предвид, че преходът между тях е топене или замръзване на

въглеводородните вериги на липидните молекули. Този преход протича в определен температурен интервал, характерен за даден липид. Затова под *температура на фазовия преход* T_p (от гел в течен кристал или обратно) се разбира температурата, при която половината от фосфолипидните молекули в бислой са в твърдо, а другата половина - в течнокристално състояние.

Липидният бислой на функциониращите биомембрани се намира в течнокристално състояние. При охлаждане на органи, тъкани и отделни клетки под около -10 , -30 °C в мембраните последователно замръзват онези липиди, за които температурата се понижи под тяхната температура на фазов преход. Образувалите се твърди области в липидния слой имат различен състав от течните, тъй като разтворените в липидната фаза нискомолекулни съединения и белтъци се изтласкват към течните области на мембраната. Такова *разделяне на вещества във фазите и следващата го пълна кристализация* на липидния слой могат доведат до необратими промени в мембраната. Те са едни от факторите, понижаващи жизнеспособността на клетката при *консервиране на клетки и тъкани чрез дълбоко охлаждане*.

Фазовият преход е *кооперативен процес*, тъй като засяга едновременно няколко съседни липидни молекули в определен участък от мембраната, образуващи една кооперативна единица.



Фиг. 6.7. Термограма на фосфолипид в областта на фазовия преход

Кооперативна система по дефиниция е такава система, в която енергията на съставните ѝ елементи зависи от взаимодействието помежду им. За изследване на фазовите преходи и за оценка на размерите на кооперативните единици се използва методът *микрокалориметрия*. С помощта на уред, наречен диференциален сканиращ микрокалориметър, се измерва специфичния топлинен капацитет на фосфолипидна суспензия при различни

температури в областта на фазовия преход. Тази величина е равна на количеството топлина, необходимо за повишаване на температу-

рата на единица маса от дадено вещество с 1 градус. Максимумът на получената крива (фиг. 6.7) съответства на температурата на прехода T_p , а малкият максимум преди него – на промяната в наклона на въглеродородните вериги.

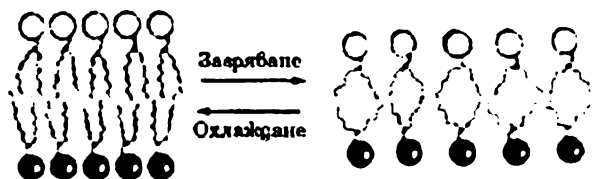
Температурата на фазовия преход зависи главно от *строежа на въглеродородните вериги на липидните молекули*. По правило колкото въглеродородната верига е по-дълга, толкова T_p е по-висока. При намаляване на *дължината* на една наситена верига с две метиленови звена (CH_2) T_p се понижава с около 15 - 20 °C. Твърдото състояние се характеризира с плътна опаковка на въглеродородните вериги, каквато е възможна при наситените вериги. *Наличието на цис-двойна връзка* в едната верига на липидните молекули рязко понижава T_p , тъй като огъването на тази верига нарушава плътността на опаковката между нея и съседните (фиг. 4.3). Още по-ниска става T_p , когато и в другата верига има такава връзка. Степента на понижение зависи и от *положението на връзката* във веригата – ефектът е най-голям, когато тя се намира в средата (при въвлероден атом 9 или 10). Аналогично влияе свързването на *метилова група* (CH_3) - T_p се понижава най-силно, ако тя е в средата на веригата, а практически не се променя, когато тази група е свързана близо до нейния край.

Строежът на полярните глави на липидните молекули също има значение за T_p . Например T_p на фосфатидилхолина е с 20 °C по-ниска, отколкото на фосфатидилетаноламина при едни и същи въглеродородни вериги. Тази температура зависи от *степенята на йонизация на полярните групи* на отрицателно заредените фосфолипиди и обикновено се понижава с увеличаване степенята на йонизация.

Изменения във фазовото състояние на липидния бислой могат да настъпят и при *постоянна температура*, но при промяна на pH, йонния състав на средата, липидния състав на бислая и под действие на мембранотропни вещества. Установени са много факти и корелации между T_p и активността на редица мембраносвързващи ензими, което показва значението на фазовото състояние на липидите за функционирането на мембраните.

§ 6.4. Молекулен механизъм на фазовите преходи

Бислойният строеж на липидната фаза се запазва и при твърдото, и при течното състояние на биомембраните. Около всяка липидна молекула се намират шест съседни молекули, които определят нейната хексагонална опаковка. Плътноста на тази опаковка обаче е различна при двете състояния (фиг. 6.8). Например молеку-



Фиг. 6.8. Преход на липидния бислой от кристално (β -фаза) в течнокристално (α -фаза) състояние

лата на фосфатидилхолина заема в твърдия бислой напречна площ $0,5 \text{ nm}^2$, а в течния - от $0,6$ до $0,8 \text{ nm}^2$ (в зависимост от вида на мастните киселини). Съответно с около $0,5 \text{ nm}$ се променя

и дебелината на бислоя - в течное състояние тя е по-малка, отколкото в твърдо. Двете състояния се различават и по други характеристики като вискозитет и разтворимост на различни вещества в липидната фаза.

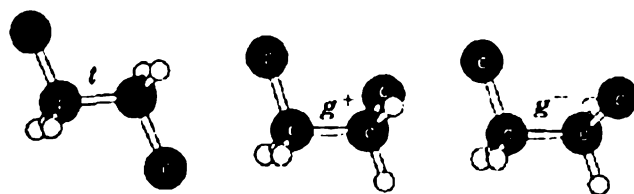
Преходът между твърдо и течное състояние е преход от подредено състояние на въглеводородните вериги (β -фаза) към не подредено (α -фаза). Молекулна основа на този преход са промените, които настъпват в конформацията на въглеводородните вериги, т. е. *ротационната изомеризация*.

Когато температурата е достатъчно ниска, топлинното движение е слабо и всички съединителни C-C-връзки на въглеводородните вериги са от типа транс-, т. е. веригите са в *пълна транс-конформация*. Това означава, че те представляват линейни структури, които са максимално опънати, успоредни една на друга и в близък контакт. Това състояние на въглеводородните вериги се нарича *подредено или β -фаза* и съответства на най-плътна опаковка. Тяхната подвижност, естествено, е ограничена. Те могат да извършват само слаби съгласувани трептения (осцилации) или въртливо движение около точката на захващане към полярната глава (прецесия).

С повишаване на температурата осцилаторната и прецесионната подвижност рязко нарастват, а с тях - и вероятността за

ротационна изомеризация. Въртенето около единични C-C-връзки на въглеводородните вериги не е свободно, тъй като е необходима енергия за преодоляване на отблъскването между атомите. С изменение на ъгъла на завъртане се получават нееквивалентни по енергия положения, в някои от които веригата е в сравнително устойчиво равновесие (с по-ниска енергия). Тези положения, възникващи в резултат от въртене около единични връзки, определят конформацията на една молекула и наличието на различаващи се помежду си устойчиви временни форми, наречени *ротационни изомери* или *ротамери*. Една липидна въглеводородна верига може да има множество ротамери поради големия брой единични връзки.

Най-малка енергия има транс- (*t*), а най-голяма - цис-конформацията (*cis*), която се получава от нея при ъгъл на завъртане 180° (фиг. 4.3 а). Сравнително малка енергия (2 - 3 kJ) е необходима за завъртане на веригата на 120° и преминаване от транс- в *гош-конформация* (фиг. 6.9). За това е достатъчна и енергията на топлинното движение. Гош-конформацията (*g*) може да бъде g^+ , когато въртенето е по посока на часовниковата стрелка и g^- - в обратна посока. Появата на единична *g*-конформация извежда разположената след нея част на веригата от първоначалната



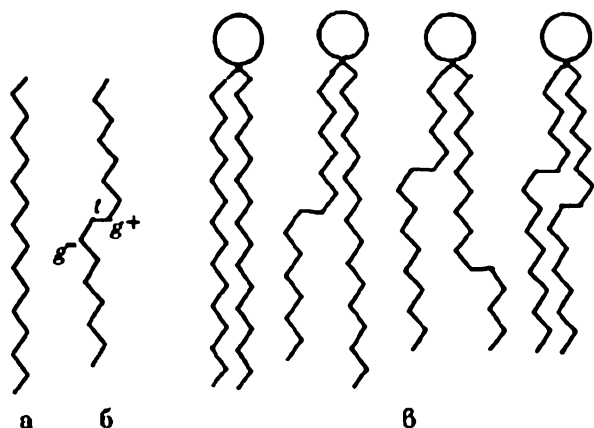
Фиг. 6.9. C-C връзка в транс (*t*), гош + (g^+) и гош - (g^-) конформация

равнина и променя нейната посока. Плътна опакованата система от въглеводородни вериги с пълна *t*-конформация се оказва сериозна пречка за такава промяна и я прави

невъзможна. Пространствените затруднения обаче са преодолими ако след една g^+ -конформация веригата се завърти още един път на същия ъгъл, но в обратна посока. Тогава веригата като цяло остава трансoidalна с изключение на участъка от нея в $g^+ - t - g^-$ -конформация, който образува извивка, наречена *кич* (фиг. 6.10). Енергията на това състояние е двойно по-голяма, отколкото при единична *g*-конформация. Въртенето около двойна C=C-връзка не е

възможно при енергии от порядъка на топлинното движение. Но в ненаситена верига е достатъчна само една *g*-конформация, за да се образува кинк от вида *g-t-cis*.

Появата на единични кинкове облекчава възникването на



Фиг. 6.10. Схеми на въглеводородна верига в пълна транс-конформация (а), на верига с кинк (б) и на липидни молекули с различни комбинации от такива вериги (в)

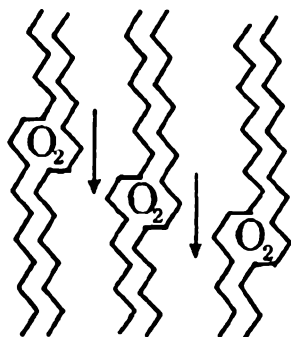
кинкове в съседни въглеводородни вериги. Освен това двойните цис-връзки в ненаситените вериги благоприятстват възникването на кинкове в съседните им наситени вериги. Получават се *кинк-блокове*, заемащи части на единия монослой или срещуположни части в двата монослоя на мембраната.

Образуването на кинко-

ве води до скъсяване на дължината на веригите и увеличаване на обема, зает от една липидна молекула. Структурата на бислоя се променя, тъй като дебелината му се намалява, а разстоянието между липидните молекули се увеличава (латерално разтягане). Например появата на два кинка във всяка верига намалява дебелината на бислоя с 0,7 nm и увеличава напречната площ на молекулата с 0,2 nm².

При появяването на гош-ротамери и настъпването на бърза изомеризация въглеводородните вериги преминават от подредена β -фаза към неподредена α -фаза. Тогава веригите осцилират силно около едно средно положение, не са максимално опънати, между тях няма близък контакт, отделени са една от друга и плътността на липидния бислой е по-малка. В такова състояние на липидния бислой кинковете могат да изомеризират като се преместват надолу по въглеводородната верига чрез синхронно завъртане на 120°, съответстващо на последователността на C-C-те връзки. Това преместване може да се разглежда като своеобразна едномерна дифузия на кинка (фиг. 6.11).

По честотата на появяване на кинка може да се пресметне коефициента му на дифузия. Получената стойност съвпада добре с известните коефициенти на проникваемост на липидните мембрани за O_2 , H_2O и малки молекули на неелектролити. Освен това има и геометрично съответствие между размерите на тези молекули и свободния обем (кухината), възникнал при образуване на кинк. Въз основа на това Трейбл (Н. Traible, 1971) приема, че преносът на малки молекули през мембраната може да става в кухините между съседни кинкове при тяхната дифузия (фиг. 6.11).



Фиг. 6.11. Дифузия на кинкове и пренос на молекула

Прокариотите регулират флуидността на своите мембрани чрез изменение на броя на двойните връзки и дължината на въглеводородните вериги. Така съотношението между броя на наситените и ненаситените вериги в мембраната на бактериите Escherichia coli намалява от 1,6:1 на 1:1 при понижаване на температурата на средата от 42 на 27 ° C. Това преготвява прекаленото втвърдяване на мембраната при понижаване на температурата.

Главен регулатор на флуидността на мембраните *при еукариотите е холестеролът*. Намирайки се между въглеводородните вериги, той пречи на кристализацията им, тъй като ги отдалечава една от друга. От друга страна той ограничава техните движения, с което снижава флуидността. По този начин холестеролът поддържа флуидността на мембраната на някакво средно ниво.

Фазовите преходи в биомембраните са тясно свързани с проблема за температурната адаптация на организмите. Изследванията върху фосфолипидния състав на мембрани от клетки на северен елен показват, че близо до копитото му преобладават липиди с ненаситени въглеводородни вериги. Те имат по-ниска температура на фазов преход в сравнение с липидите от мембрани на клетки от части на тялото му, които не са в непрекъснат контакт със снежната покривка.

§ 7. СВОБОДНОРАДИКАЛНО ПРЕКИСНО ОКИСЛЕНИЕ В БИОЛОГИЧНИТЕ МЕМБРАНИ

§ 7.1. Свободни радикали

Свободен радикал е всяка молекула или част от нея (йон, атом, група атоми), която има несдвоен електрон и може да съществува самостоятелно (свободно, несвързано). Свободните атоми на редица елементи (например H, N, O и алкалните метали) имат по един несдвоен s- или p- електрон или няколко несдвоени p- електрона. Една стабилна молекула се превръща в радикал при отделяне или при присъединяване на един електрон, тъй като нейната свързваща молекулярна орбитала е заета от два електрона с антипаралелни спинове.

От физична гледна точка една частица с некомпенсиран механичен момент (спин) има и некомпенсиран магнитен момент, поради което радикалите имат *парамагнитни свойства*. От химична гледна точка несдвоен електрон означава свободна валентност, т. е. възможност за образуване на ковалентна връзка и затова свободните радикали се характеризират с *висока химична активност*. Прието е свободната валентност на радикалите да се означава с точка и по-рядко - с чертичка към химичните им символи (напр. означението за свързан хидроксилен радикал е OH, а за свободен е OH[•] или -OH).

В зависимост от броя на несдвоените електрони радикалите са *моно- и бирадикали*, а според техния електричен заряд – *неутрални, анион- и катионрадикали*. Поради високата си реактивност свободните радикали имат *много късо време на живот* – от порядъка на части от секундата. Стабилността на някои свободни радикали, които са дългоживеещи, се обяснява с по-особената им електронна структура.

Радикалите лесно реагират помежду си като *рекомбинират* и образуват непарамагнитна молекула. В един и същ радикал е възможно преместване на несдвоения електрон и получаване на радикалови изомери. Най-типичните *реакции на радикалите с други молекули*, при които се получава нов радикал, са размяната на електрон (заместване) или присъединяването на радикала. Освен крайните продукти при тези реакции се образуват междинни радикалови про-

дукти, които реагират с нови молекули и създават нови радикали, а те от своя страна влизат в нови реакции и т. н. Тези *верижни реакции*, веднъж започнали, се развиват бързо и се прекъсват едва когато изчезне и последният свободен радикал.

§ 7.2. Образуване на свободни радикали в биологични системи

В биологични системи свободни радикали се образуват при нормални и патологични процеси, а също и под действието на външни химични и физични фактори. Една молекула се превръща в свободен радикал по различни начини - като присъединява или отделя електрон или преминава във възбудено състояние. Това става главно чрез хомолиза, реакции на едноелектронен пренос, действие на екзогенни вещества (ксенобиотици) и действие на светлина, йонизиращи лъчения и др. физични фактори.

• *Хомолиза на молекули*

Най-често химичните връзки в молекулата са ковалентни. При такава връзка стабилната електронна конфигурация на молекулата е резултат от образуване на електронна двойка от единични електрони с антипаралелни спинове на двата свързани атома. Ковалентната връзка може да бъде разкъсана с външно въздействие по два начина: хетеролиза или хомолиза. Въздействие с по-голяма енергия върху връзка с по-голяма поляризуемост води до хетеролиза - двойката електрони остава при единия атом и се образуват два йона. Така например под действие на силно електрично поле се разкъсва връзката в молекулата на хлороводорода:



При въздействие с по-ниска енергия и наличие в молекулата на лабилно свързан атом се получава хомолиза - *разкъсване на връзката, при което към двете части на молекулата остава по един от двата електрона и те се превръщат в радикали*. Хомолитично разпадане на хлороводорода например е възможно под действие на светлината:



Лабилно свързан атом в ненаситените въглеводородни вериги на мембранните фосфолипиди е водородният атом, който е в α -положение по отношение на двойната връзка. Неговата енергия на свързване към въглерода е по-малка от тази при двойната връзка, а най-голяма е енергията на свързване на водорода в наситена верига. Това обяснява нарастването на способността на липидите да образуват радикали при увеличаване броя на двойните им връзки.

• *Реакции на еноелектронен пренос*

Процесите, при които се обменят електрони между реагиращи вещества и настъпва промяна в степента на окисление на някои от тях, се наричат *окислително-редукционни процеси*. В някои случаи електрони се пренасят от редуктора направо към окислителя, а в други това става с участието на други атоми (напр. водород при хидрогенирането). Голямо значение за образуването на свободни радикали имат реакциите между молекули и метали с променлива валентност като желязо, мед и кобалт, които лесно отдават или приемат електрон:



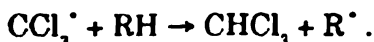
В биологичните системи еноелектронният пренос е част от нормално протичащи процеси при фотосинтезата, в дихателната верига на митохондриите и окислителната верига на ендоплазматичния ретикулум, при синтеза на хормони, образуването на меланин и др.

• *Действие на екзогенни вещества (ксенобиотици)*

В организма се образуват свободни радикали и при попадане на чужди за метаболизма вещества, наричани екзогенни вещества или ксенобиотици, които са стабилни радикали или метаболизират в организма, създавайки междинни свободни радикали. В биологична среда напр. е установено получаване на трихлорметиллов радикал ($\text{CCl}_3^\cdot$) от хлороформ (CHCl_3) и тетрахлорметан (CCl_4), супероксиден радикал ($\text{O}_2^{\cdot -}$), алкохолни и съдържащи азот радикали, еноелектронни междинни продукти и др., образувани при метаболизма на различни канцерогени и химиотерапевтични агенти. Токсичността на тетрахлорметана например се дължи на неговия радикал, образуван *in vivo* при хомолитичното му разграждане:



Този радикал отнема водород от ненаситените вериги на липидите RH, при което се получава хлороформ и липиден радикал R[•]:



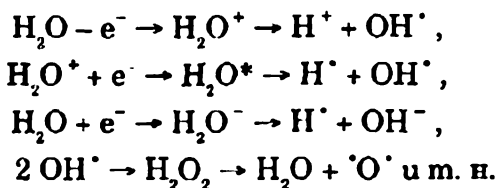
Много химични вещества, които съдържат или могат да образуват свободни радикали в организма, са ксенобиотици, широко използвани в бита, растителната защита, анестезиологията и в други области. Такива са и някои междинни и отпадни продукти, получавани при химико-технологични процеси, при работата на двигатели, транспортни средства и др. Тютюневият дим съдържа голямо количество радикали, които играят решаваща роля при канцерогенезата у пушачи. Етанолът, жълтият фосфор, оротовата киселина, тиоацетамидът, етионинът и др. прооксиданти са значително по-малко токсични от тетрахлорметана, но и случаите на алкохолно отравяне, хербицидни интоксикации и др. подобни водят до различни тъканни увреждания.

• *Действие на физични фактори*

Компонентите на биологичните системи образуват свободни радикали под действието на йонизиращи лъчения, ултравиолетова светлина, ултразвук, висока температура, електрични разряди и др.

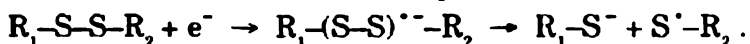
Йонизиращите лъчения първоначално предизвикват в биологичните тъкани промени, характерни за взаимодействието им с веществото. Те възбуждат или йонизират атомите и молекулите, а отделените при това електрони, заседно със заредените частици на лъчението, създават по пътя си нови възбуждени молекули, йони, електрони и радикали. В радиобиологията тези процеси се наричат *първични радиационно-химични процеси*.

Молекулите, загубили електрон при взаимодействието, се превръщат в катионрадикали, а онези, които са присъединили електрон - в анионрадикали. Освен това както възбуждените, така и йонизирани молекули могат да се дисоциират до свободни радикали. Разпадането на молекулите под действие на йонизиращите лъчения се нарича *радиолиза*, а под действие на светлината - *фотолиза*. Например при радиолиза на водата могат да протекат следните реакции (с * е означено възбудено състояние):



Ако във водата има разтворен кислород, с присъединяването на електрон от него се образува супероксиден анионрадикал $\text{O}_2^{\cdot-}$ и всички други активни форми на кислорода, произлизащи от този радикал.

Белтъците с ароматни или съдържащи сяра аминокиселини (напр. триптофан, цистин) образуват свободни радикали под действие на йонизиращо и ултравиолетово лъчение. Цистинът в белтъците лесно присъединява електрон и се превръща в анионрадикал $\text{R}_1-(\text{S}-\text{S})^{\cdot-}-\text{R}_2$, а прекъсването на дисулфидния мост в белтъка води до появата на цистеинов радикал $\text{S}^{\cdot}-\text{R}_2$:



При облъчване на ДНК с γ - или ултравиолетови лъчи се получават анионрадикали на тимина и катионрадикали на гуанина, а в присъствие на някои съединения (профлавин, акридин и др.) ДНК образува радикали дори и при облъчване с видима светлина. Тези данни насочват към предположения за радикалов механизъм на канцерогенезата под действие на химични и физични фактори.

Продукт на *фотохимично действие* върху замърсената атмосфера е състоянието ѝ, наречено *смог**). Смогът възниква с появяването на първични продукти, замърсяващи атмосферата, които могат да не са токсични и химично активни. Това са главно азотни и въглеродни оксиди и частици от неизгорели мастни и ароматни въглеводороди, получавани при изгаряне на въглища и автомобилно гориво. По-интензивната слънчева светлина в присъствието на атмосферен озон и синалетен кислород предизвиква образуване на свободни въглеводородни радикали. Тези радикали, азотният диоксид и въглеродният оксид, който има висок афинитет към хемоглобина, се вдишват заедно с въздуха и са основните компоненти на смога, вредни за здравето.

*) Думата *смог* (smog) е съставена чрез свързване на две английски думи – *smoke* (дим) и *fog* (мъгла).

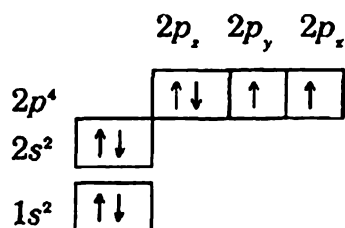
§ 7.3. Радикали и активни форми на кислорода

Високата ефективност, с която аеробните организми превръщат хранителните вещества в химична енергия, се дължи на използването на кислорода в техния метаболизъм. От друга страна неизбежна последица от аеробното дишане е генерирането на свободни радикали и активни форми на кислорода, които предизвикват токсични ефекти.

• Енергийни състояния на кислородната молекула

Счита се, че поведението на кислорода в свободнорадикаловите реакции се дължи на уникалния строеж на неговата молекула. Въпреки, че във външния си електронен слой има четен брой електрони, кислородната молекула (O_2) е силно парамагнитна, което се дължи на наличието на два несдвоени електрона. Електрохимични изследвания показват, че O_2 наистина има поведение на бирадикал, т. е. тя е особено податлива на еднелектронни редукции.

Бирадикалните свойства на кислородната молекула могат да се обяснят, ако се приеме, че ковалентната връзка между двата атома е единична (O-O). Известно е обаче, че връзката между двата атома е по-силна от единична и по-слаба от двойна връзка, а разстоянието между тях е почти равно на дължината на двойната връзка C=O. Тези данни показват, че електронният строеж на кислородната молекула е по-сложен от онзи, който обяснява бирадикалния ѝ характер.



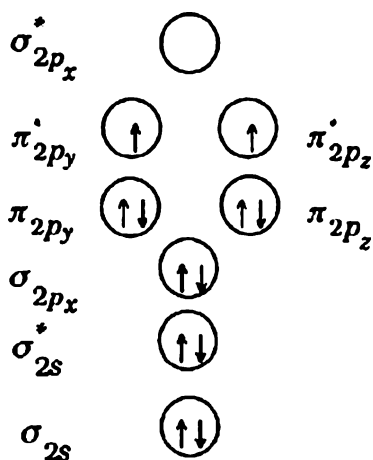
Фиг. 7.1. Електронна конфигурация на кислородния атом

Парамагнетизмът на кислородната молекула се обяснява с метода на молекулните орбитали, тъй като теорията на Люис за ковалентната връзка не допуска наличие на несдвоени електрони в една молекула. Кислородният атом има 4 външни орбитали с 6 електрона в L-слоя: $2s^2$, $2p_x^2$, $2p_y$ и $2p_z$ (фиг. 7.1).

От осемте външни орбитали на двата кислородни атома се образуват осем молекулни орбитали - четири свързващи и четири антисвързващи (фиг. 7.2). Всички свързващи молекулни орбитали и

една антисвързваща (σ_{2s}^*) са заети от сдвоени електрони. Една антисвързваща орбитала ($\sigma_{2p_x}^*$) е незаета, а на останалите две ($\pi_{2p_y}^*$ и $\pi_{2p_z}^*$) с една и съща енергия се намира по един електрон и тези електрони са с паралелни спинове.

Основното състояние на кислородната молекула е *триплетно*, тъй като спиновото число на молекулата е $S = 1$ и квантовото число за мултиплетност се получава $\Sigma = 2S + 1 = 3$. Спектроскопското означение на това състояние е ${}^3\Sigma_g^-$, където 3 означава мултиплетността, а индексите



Фиг. 7.2. Електронна конфигурация на кислородната молекула

минус и g - съответно нечетността на вълновата функция спрямо равнината на двете ядра и четността ѝ спрямо центъра на молекулата.

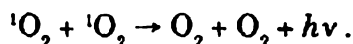
В зависимост от енергията на възбуждане O_2 може да премине от основното си състояние в едно от двете възбудени състояния. И двете състояния са *синглетни* ($\Sigma = 1$), тъй като при възбуждането единият електрон

обръща спина си и спиновите на несдвоените електрони стават антипаралелни (табл. 7.1).

Табл. 7.1. Енергийни състояния и електронни конфигурации на кислородната молекула

Състояние на молекулата	Означение	Енергия, eV	Електронна конфигурация
Основно	${}^3\Sigma_g^-$	0,00	$\uparrow \quad \uparrow$
I възбудено	${}^1\Delta_g$	0,98	$\uparrow\downarrow \quad \text{—}$
II възбудено	${}^1\Sigma_g^+$	1,63	$\uparrow \quad \downarrow$

По-стабилната форма (${}^1\Delta_g$) има по-ниска енергия и двата електрона заемат една и съща антисвързваща орбитала. Тази форма няма радикален характер, но е токсична и се означава като 1O_2 . Излъчвателният преход към основното състояние е забранен по спин и по четност, но е възможен при рекомбинация на две възбудени молекули:



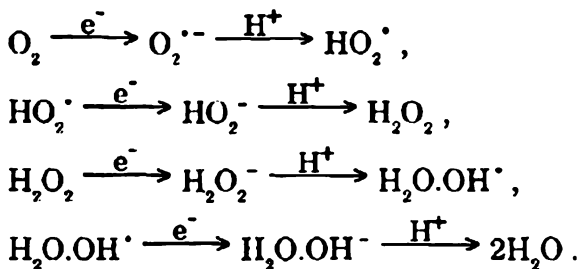
Във формата с по-голяма енергия (${}^1\Sigma_g^+$) двата електрона с антипаралелни спинове са в различни орбитали, т. е. спиновете им не са съвнесени. Тази форма има квазирадикален характер поради частично компенсиране на спиновете, но всеки от двата електрона има силна реактивност, дължаща се на възбуденото състояние. Счита се обаче, че тя няма значение за биологичните системи, тъй като има много кратък живот (10^{-10} s) и енергията ѝ лесно преминава във вибрационна енергия на водната молекула.

Наличието на едичинни електрони с паралелни спинове във всяка една от двете външни орбитали ограничава способността на O_2 да приема наведнъж два електрона, тъй като и те трябва да са с паралелни спинове. Това условие се нарича *спинова забрана*. Електроните в молекулната орбитала на ковалентните съединения са със съвнесени спинове и предпочитаните реакции на O_2 с такива съединения са едноелектронните редукции. Независимо, че O_2 е бирадикал, поради спиновата забрана той има слаба окислителна способност.

• *Активни форми на кислорода*

Кислородът постъпва в клетките като молекула, а в продуктите на обмяната присъства или като молекула, или като атом. И двата случая изискват разкъсване на връзки между двата атома и наличие на радикали или ензими. За присъединяването на кислородна молекула е необходимо получаване на пероксидна група ($-O-O-$), а на атом - дисоциация на молекулата. Дисоциацията изисква значителна енергия и продуктите, съдържащи един атом кислород (като OH , H_2O), се получават в биологичните системи чрез последователни едноелектронни редукции на O_2 .

Пълната редукция на O_2 до H_2O става възможна при четири последователни присъединявания към O_2 на по един e^- и един H^+ (редуциране и протониране). Междинни продукти са следните изпълно редуцирани форми: супероксид $O_2^{\bullet -}$, перхидроксилен радикал $HO_2^{\bullet}$ и анион HO_2^- , анион на водородния пероксид $H_2O_2^-$, солватизиран хидроксилен радикал $H_2O.OH^{\bullet}$ и анион $H_2O.OH^-$:



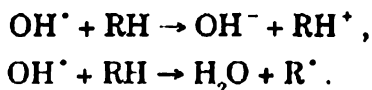
В резултат на такива реакции при нормалния метаболизъм се получават значителни количества частично редуцирани, активни (т. е. високо реактивни) форми на кислорода, които са токсични. Основните активни форми на кислорода са: супероксидният анио-прадикал $O_2^{\bullet -}$, перхидроксилният радикал $HO_2^{\bullet}$, хидроксилният радикал $OH^{\bullet}$, водородният пероксид H_2O_2 и синглетният кислород 1O_2 . Първата от тях има единичен електрон във външната орбитала и електронната ѝ конфигурация е дублет. Активни форми на кислорода са и липидните радикали и хидроперокси, получавани при прекисното окисление на липиди, а също и озонът и някои азотни оксиди.

Супероксидни радикали се получават в почти всички аеробни клетки по различни механизми, някои от които са следните:

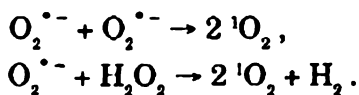
- прехвърляне на електрони върху O_2 от клетъчни електрон-потранспортни системи като тези на митохондриите, ендоплазматичния ретикулум и др.;
- бактерицидна активност на фагоцитиращи клетки (неутрофили, моноцити, макрофаги и еозинофили), дължаща се на продуцирания от тях $O_2^{\bullet -}$;
- дестабилизация и окисление на хемоглобина, при което лигандираната в хемовия джоб молекула O_2 отнема един от електроните на хемовото желязо;

- при хипоксия – когато ензимът ксантиноксидаза става генератор на $O_2^{\bullet -}$, който атакува здравите клетки и увеличава некрозата на тъканите в хипоксичния участък.

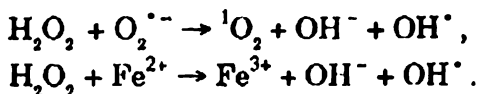
С много изследвания е доказано, че при повишена продукция на супероксид се иницира прекисно окисление, увреждат се биомембрани, белтъци, нуклеинови киселини, деполимеризират се полизахариди, окисляват се невромедиатори, аскорбат, глутатион (GSH) и други тиоли. Приема се, че *токсичното действие на $O_2^{\bullet -}$ се дължи на* много по-токсичните $OH^{\bullet}$ и 1O_2 , които се образуват при несензимни реакции. *Хидроксилният радикал е силен окислител и може да* отдели от органични молекули (напр. липид RH) единичен електрон или водороден атом, с което да иницира свободнорадикалното им прекисно окисление:



$OH^{\bullet}$ се превръща в безвредния OH^{-} при реакции с електронни донори като редуциран метал, тиолов радикал или $O_2^{\bullet -}$, при което последният преминава в 1O_2 . *Синглетен кислород се образува и при* реакции между два супероксида (дисмутация) или между $O_2^{\bullet -}$ и H_2O_2 :



Водородният пероксид не е радикал, но повишаването на концентрацията му в живите организми създава условия за неговото разлагане при наличието на супероксид или на метали с променлива валентност:



Активните форми на кислорода са потенциална опасност за аеробните организми. Животът на тези организми е станал възможен благодарение на техните *системи за защита - ензимна и неензимна*. При нарушаване на ензимната защита интензивността на прекисното окисление в клетката се увеличава и без индуциране от външни фактори. Неензимната система включва наличието на “гасители” или “хващачи” на $OH^{\bullet}$ и 1O_2 .

§ 7.4. Прекисно окисление на мембранните липиди

Свободните радикали и особено онези, които съдържат кислород, имат силни окислителни свойства и изобщо реагират с всички органични съединения. Това означава, че и всички компоненти на клетката (липиди, белтъци, въглехидрати, нуклеинови киселини и по-малки молекули) могат да образуват свободни радикали, а освен това, в резултат от свободнорадикалови реакции, могат да получат увреждания на структурата и нарушения на функциите. Затова изучаването на свободнорадикаловите механизми на тези процеси е съществено за изясняване на молекулно ниво на патогенезата на редица заболявания, а също и за създаване на ефикасни средства за профилактика, диагностика и лечение.

От всички компоненти на клетъчните мембрани най-лесно и най-интензивно се окисляват липидите. Това се дължи на няколко причини, една от които е по-високата разтворимост на кислорода и на метални комплекси в неполярна, отколкото в полярна и водна среда. Под действие на свободните радикали и на активните форми на кислорода в липидите протичат спонтанни верижни процеси на окисление. Те се наричат *автоокисление* поради спонтанната им автокаталитична природа, а също и *прекисно окисление* или *липидна пероксидация*, тъй като окислението на липидите протича с присъединяване на пероксидната група ($-O-O-$). Особеност на верижните реакции е, че радикалите, реагирайки с други молекули, не изчезват, а се превръщат в други свободни радикали.

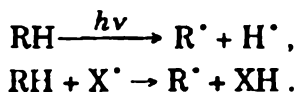
Пероксидацията на мембранните фосфолипиди и гликолипиди е пероксидация на техните мастни киселини. Наситените мастни киселини и онези полиненаситени, в които двойните връзки са разделени с повече от една метиленова група, са практически неактивни по отношение на кислорода. Полиненаситените мастни киселини, в които двойните връзки са разделени с една метиленова група, имат *висока окисляемост* и се наричат *метилен-прекъснати* или с дивинилпрекъснатата структура:



Такива са линоловата, линоленовата и арахидоновата киселина, влизащи в състава на фосфатидилетаноламина, фосфатидилхолтина, кардиоплина и др. мембранни липиди. Както бе споменато в § 7.2,

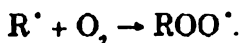
водородните атоми с най-ниска енергия на свързване в една ненаситена въглеводородна верига са в α -положение спрямо двойната връзка, т. е. най-лабилни са водородните атоми от метиленовата група на дивенилметановата структура.

Отделянето на лабилен водороден атом (хомолиза на ненаситена липидна молекула) е най-честата причина за начало на липидна пероксидация. Този етап от целия сложен верижен процес се нарича *зараждане или инициране на окислителните вериги*. Той може да се предизвика не само от хомолиза, но и от всички процеси, генериращи радикали – реакции със свободни радикали, едноелектронен пренос, възбуждане и йонизация (вж. § 7.2). Ако се въведат означения за: ненаситен липид - RH, неутрален липиден (алилов) радикал - $R^{\cdot}$, нелипиден свободен радикал - $X^{\cdot}$, пероксиден радикал - $ROO^{\cdot}$, липиден хидропероксид - $ROOH$, етапът инициране се записва така:



Обикновено след образуването на липиден радикал една от двойните му връзки се измества в съседно звено на веригата и радикалът изомеризира. Така в него се получават *спрегнати (конюгирани) двойни връзки*, разделени само от една проста връзка. Пренареждането на двойните връзки и получаването на конюгирани полиени е специфичен показател за радикаловия механизъм на процеса и на образуваните хидропероксиди.

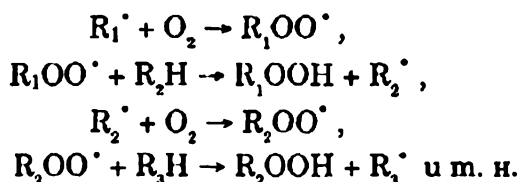
Следващ етап на липидната пероксидация е *удължаване (пролонгация) на окислителните вериги*, състоящ се в последователно повтаряне на две реакции. Първата е образуване на пероксиден радикал $ROO^{\cdot}$ от липиден радикал $R^{\cdot}$ и молекулен кислород:



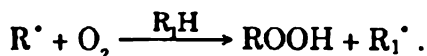
Пероксилният радикал лесно отнема водороден атом от друга липидна молекула R_1H , като образува липиден хидропероксид $ROOH$ и превръща тази молекула в радикал $R_1^{\cdot}$:



Цикълът от двете реакции се повтаря и включва нови и нови липидни и кислородни молекули:

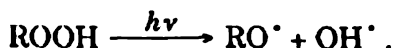


Вижда се, че началният брой на радикалите остава непроменен и може да предизвика превръщането на толкова липидни молекули в хидропероксиди, колкото е броят на протеклите цикли. Броят на циклите определя дължината на окислителната верига и обикновено е от 2 до 10. Реакциите в един от циклите на една окислителна верига могат да се обединят така:

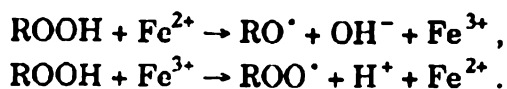


Първични продукти на липидната пероксидация са *хидропероксидите*. В случай, че няма условия за тяхното разпадане, концентрацията им, означавана като пероксидно число (ПОЧ), се използва за оценка на степента на окисление. Количеството на вторичните продукти на окислението (напр. малондиалдехид) е също мярка за степента на окисление, но то не дава възможност за оценка на началния етап на процеса. Малоновият диалдехид се определя фотокolorиметрично по цветния продукт на реакцията му с 2-тиобарбитурова киселина.

В биологичните системи хидропероксидите винаги се разпадат на нови свободни радикали, които поставят началото на нови окислителни вериги. Този етап на липидната пероксидация се нарича *разклонение на веригите*. Разпадането на хидропероксидите на алкоксирадикал $RO^\cdot$ и хидроксилен радикал $OH^\cdot$ рядко става спонтанно, но е възможно под действие на ултравиолетово лъчение:



То е най-вероятно в присъствието на метали с променлива валентност – мед, желязо, кобалт и в този случай е известно като *катализирано мономолекулно разпадане*:



Разклонението на веригите увеличава лавинообразно броя на свободните радикали, тъй като разпадането на една молекула хидропероксид увеличава с поне един броя на свободните радикали, а всеки нов радикал дава начало на една нова окислителна верига, която завършва с нова молекула хидропероксид, която отново дава нов радикал и т. н. На този мултиплициращ ефект се дължи *автокаталитичният, самоускоряващ се характер на липидната пероксидация*.

§ 7.5. Прекъсване на окислителните вериги на липидите

Възможно е и *нерадикалово разпадане на хидропероксидите* и то води до ограничаване разклонението на веригите. В биологични системи то се извършва с участието на ензими, като например глутатионпероксидаза, която има за субстрат както водородния пероксид, така и липидните хидропероксиди. Липидната пероксидация не се прекратява с нерадикаловото разпадане на хидропероксидите, а протича по механизма на неразклонените окислителни вериги. Въпреки че и тогава концентрацията на радикалите нараства до достатъчно високи стойности, процесът не продължава до пероксидацията на всички липидни молекули. Това е така, защото с нарастване на концентрацията на радикалите нараства и вероятността за нерадикалови реакции помежду им (рекомбинация) и за реакции с други молекули (антиоксиданти), различни от липидните. Така, поради унищожаване или дезактивиране на радикалите, процесът достига до последния си етап – *прекъсване (терминация) на окислителните вериги*.

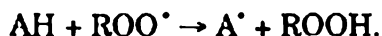
Възможни *взаимодействия между липидните радикали*, при които те рекомбинират и загубват радикаловите си свойства, са $\text{R}^\bullet + \text{R}^\bullet$, $\text{R}^\bullet + \text{ROO}^\bullet$, $\text{ROO}^\bullet + \text{ROO}^\bullet$. Обикновено продукти на последното са три различни молекули – кетон ($\text{R}_1=\text{O}$), алкохол (R_2-OH) и синглетен кислород ($^1\text{O}_2$):



Кетонът и кислородът имат сравнително ниски енергии на възбуждане, което обуславя понятието им във възбудени състояния и гасенето на тези състояния чрез *хемилуминесценция*.

Вероятността за хемилуминесценция се определя от квантовия добив, но при тази реакция обикновено той е доста нисък и се дължи главно на излъчвателните преходи на кетоните. Интензитетът на хемилуминесценцията рязко нараства при внасяне на някои инертни добавки (активатори) в пробата. *Активаторите* не участват в химични реакции и не променят скоростта на окислителния процес, а само повишават интензитета и увеличават чувствителността на метода. Хемилуминесценцията, наред с ЕПР, се използва като основен физичен метод за определяне концентрацията на свободни радикали.

Антиоксидантно действие имат две групи съединения. Към *едната група антиоксиданти* спадат съединения от типа АН, съдържащи лабилно свързан водороден атом Н, който липидните радикали $R^\bullet$ и $ROO^\bullet$ лесно присъединяват. Освен това антиоксидантите се превръщат в слабоактивни радикали $A^\bullet$, неспособни да продължат верижния процес:



По произход антиоксидантите от тази група са *природни (биооксиданти)* и *синтетични*, като биооксидантите се делят още на мастноразтворими (липофилни) и водоразтворими. От *мастноразтворимите* най-голямо значение имат витамините от група Е (най-вече α -токоферолът), каротеноидите – главно β -каротен (независимо от ролята му на провитамин А), ликопен и самият витамин А (ретинол). В липидната фаза на мембраните токоферолът реагира с пероксилните $ROO^\bullet$ и алкоксилните $RO^\bullet$ радикали до получаване на сравнително стабилни липидни хидроперокси и токофероксилни радикали. Освен че прекъсва веригите, той взаимодейства и с $O_2^{\bullet -}$, $OH^\bullet$ и 1O_2 , като по този начин една молекула токоферол предотвратява оксидацията на повече от 2000 ненаситени мастни киселини. Антиоксидантно действие имат и витамини от групи К и Р, флавоноиди, билирубин, биливердин, убихинон, някои фосфолипиди

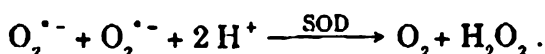
(фосфатидилхолин, фосфатидилетаноламин), някои стероидни хормони и др.

Най-ефикасният *водоразтворим антиоксидант* е витамин С (аскорбинова киселина), тъй като е основен антиоксидант на екстрацелуларната течност, а освен това предпазва мембраните от липидна пероксидация като регенерира токоферола. Витамин С и витамин Е са едни от най-разпространените антиоксиданти в природата, но не се синтезират в човешкия организъм. От съединенията, съдържащи тиолова (SH) група, албуминът, глутатионът, цистеинът и пикочната киселина имат най-голямо значение като физиологични антиоксиданти на кръвната плазма. Водоразтворими биооксиданти са и някои карбонови киселини, свързващи желязо; тиоксия, бензоена и никотинова киселина, адреналин, карбамид, селен, редица антибиотици и др. Към *синтетичните антиоксиданти*, използвани в медицината, биологията и хранителната промишленост, се отнасят производни на барбитуровата киселина, органични съединения на сярата (аминотиоли), феноли, пирогалол, фенатиозин и др.

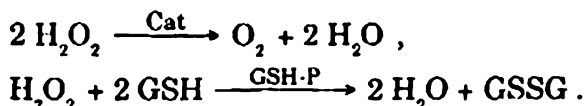
Другата група антиоксиданти включва съединения, които могат да понижават рязко концентрацията на радикалите и активните форми на кислорода. Това са *три основни групи ензими*: супероксиг-дисмутази (SOD) - с кофактори мед, манган или желязо; хемопротеинът каталаза (Cat) и ензимите глутатион-пероксидази (GSH-P), които имат за косубстрат трипептидът със сулфхидрилна група глутатион (GSH). Един от видовете на ензима глутатион-пероксидаза съдържа в активния си център четири атома селен под формата на селеноцистеин. С него се свързва не само защитата на клетката от липидна пероксидация, но и някои ендемични и злокачествени заболявания, протичащи при недостиг на селен.

Ензимите от трите групи катализират реакции, които конкурират аналогичните им неензимни реакции и поддържат ниски стационарни нива на $O_2^{\cdot -}$ и H_2O_2 , така че да няма възможност за спонтанни реакции. Ензимната дисмутация на супероксид със SOD е 10^4 пъти по-бърза от спонтанната. Това предотвратява евентуална реакция на $O_2^{\cdot -}$ с H_2O_2 и образуването на $OH^{\cdot}$, а освен

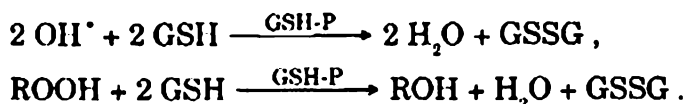
това отделеният кислород е в триплетно, а не в синглетно състояние:



Каталазата и глутатион-пероксидазата разлагат H_2O_2 също без да се получава $\text{OH}^{\cdot}$:



Глутатион-пероксидазите отстраняват $\text{OH}^{\cdot}$ и органичните хидроперокси (ROOH) в присъствието на глутатион, който се окислява до глутатион-дисулфид (GSSG):



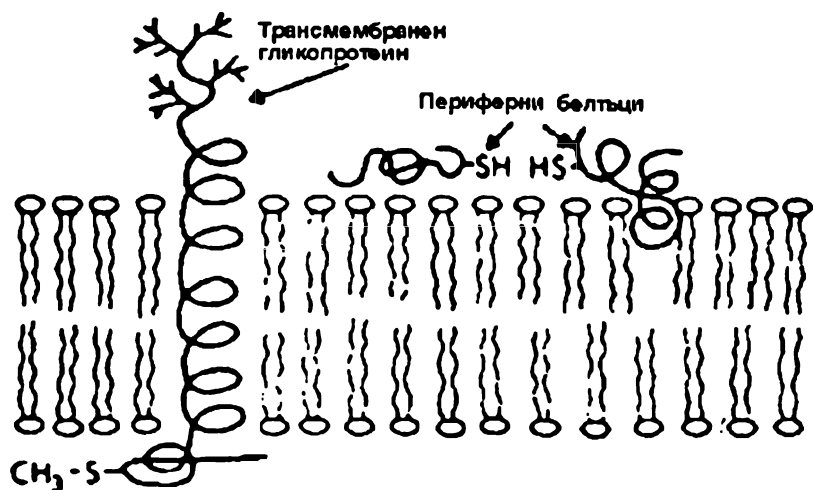
Участието на глутатиона в последните реакции има особено значение, тъй като полученият от него дисулфид отново се превръща в глутатион в реакция, катализирана от друг ензим – глутатион-редуктаза (GSH-R). Регенерирането на този антиоксидант е изключително важно при ограниченото количество на антиоксиданти в клетката. Присмането на антиоксиданти се прилага терапевтично при състояния като стареене, атеросклероза, инфаркт на миокарда и др.

§ 7.6. Последици от прекисното окисление

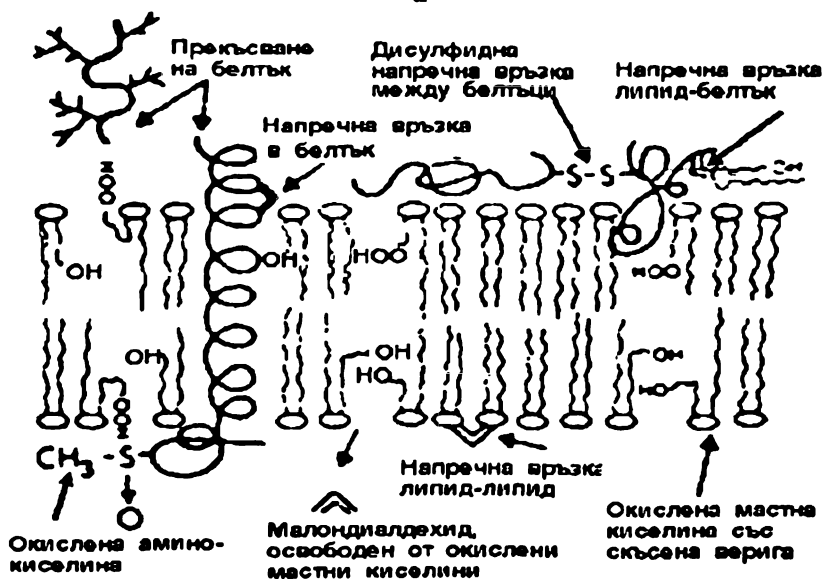
• *Увреждания на мембранните компоненти и мембраните*

Прекисното окисление на *липидите* обхваща главно полиненаситените мастни киселини и води до получаване на техни късверижни производни и на вторичния продукт малонов диалдехид $\text{OHC}-\text{CH}_2-\text{CHO}$, който е силно реактивоспособен. Пренареждат се и двойни връзки, като в зависимост от броя им се образуват конюгирани диени, триени или тетрасни. Появяват се и нови функционални групи (хидропероксидни, алдехидни, кетонни, алкохолни) и продукти с циклична структура (епоксиди и енопероксиди). При това се намалява и броят на течните хидрофобни вериги в бислойната

област, а между съседните молекули възникват напречни връзки (фиг. 7.3), което увеличава броя на липидите с ограничена подвижност в бислой.



а



б

Фиг. 7.3. Схеми на нормална клетъчна мембрана (а) и на мембрана със свободнорадикалови увреждания (б)

Перекисното окисление на липидите създава условия за окисление и на белтъците и полизахаридите в мембраните, които се окисляват по-слабо от липидите. Това се дължи както на реакции с радикали, така и на реакции с продукти от пероксидацията на ли-

пигите. Аминокиселините, съдържащи двойни връзки и тиолови групи като тирозин, триптофан, хистидин, метионин и цистеин, са най-уязвими, тъй като водородният атом в сулфхидрилната група е свързан слабо. Някои алдехидни продукти като малоновия диалдехид взаимодействат с аминокерупи на белтъчни молекули, което води до образуване на напречни междумолекулни и вътремолекулни връзки. Това предизвиква полимеризация и включване на продукти от пероксидацията в структурата на белтъците. В резултат от радикалови реакции някои полипептидни вериги се фрагментират и стават податливи на протеолитично разрушаване. Всичко това води до денатурация на белтъци, инактивиране на ензимни системи, промяна на свойствата на транспортни белтъци като Na^+/K^+ -евата и Ca^{2+} -евата помпа, на рецепторни и други белтъци в мембраните.

Полизахаридите и нуклеиновите киселини се увреждат по подобен начин. Доказано е, че глюкозата залавя хидроксилни радикали и се автоокислява при физиологични условия. Този процес се катализира от йони на метали с променлива валентност и протича с образуване на активни форми на кислорода. Гликопротеините са по-уязвими към окисление именно поради своята въглехидратна част. Взаимодействието на свободни радикали с полизахаридите води до тяхната деполимеризация. Това се получава например с хетерополизахаридите в ставите на болни от ревматоиден артрит.

В нуклеиновите киселини свободните радикали увреждат репаративните ензими, което предизвиква дефекти в генетичния апарат на клетките и има мутагенно и канцерогенно действие. Най-уязвимите компоненти на ДНК са тиминът и цитозинът, а след тях и адеинът, гуанинът и дезоксирибозата.

В резултат от прерисното окисление на мембранните липиди и белтъци се променят и *физичните свойства на мембраните*. На измененията в липидите се дължи увеличаването на вискозитета и намаляването на флуидността на мембраните. Нараства и отрицателният повърхностен заряд на мембраните, тъй като вторичните продукти на липидната пероксидация съдържат карбоксилни и карбоксилни групи. Това намалява електричната стабилност на

мембраните и може да повлияе на трансмембрания потенциал и на йонния транспорт.

От друга страна в редица мембрани (на еритроцити, митохондрии, ендоплазматичен ретикулум, лизозоми) липидната пероксидация предизвиква увеличаване на проникваемостта за различни йони и макромолекули. Пасивният и активният трансмембранен транспорт се нарушават и мембраните не могат да поддържат йонните градиенти, необходими за нормалния метаболизъм на клетките. Инактивирането и активирането на някои мембраносвързани ензими може да предизвика метаболитен дисбаланс.

Скъсяването на въглеродородните вериги на фосфолипидите, фрагментирането на белтъците, нарушаването на междумолекулните взаимодействия и др. се отразяват на бариерните функции и на целостта на мембраните. При по-интензивна пероксидация на мембраната настъпва *лизиране* – тя става проникваема и за големи молекули, от нея могат да се отделят белтъци, започва разпадане на органели и изливане на съдържимото. Допълнителни увреждания могат да се получат от лизирането на лизозомните мембрани и изливането на хидролитични ензими в цитозола, както и от увреждането на митохондрии, които са автономен източник на радикали.

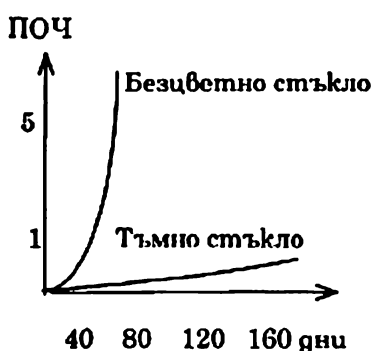
В крайна сметка прекисното окисление на мембранните компоненти и мембраните нарушава цялостния метаболизъм на клетките и техните органели. Нарушеният метаболизъм е характерен за патологичните състояния, но не винаги е ясно дали прекисното окисление е причина или следствие от него.

• *Автоокисление на фармацевтични препарати*

Липидите са основна част на много фармацевтични препарати – унавеити, маслоразтворими витамини и разтвори на лечебни вещества, а също и на някои козметични средства – емулсионни форми, кремове, сапуни и др. Фармацевтичните и козметични препарати, съдържащи ненаситени липидни компоненти, са подложени на *автоокисление под действие на атмосферния кислород*. И при тях пероксидите са първичен продукт от окислението на животински и растителни мазнини, восъци, емулгатори, парфюми и т. н. При разпадане на пероксидите се образуват вторични продукти – нискомолекулни алдехиди, кетони, карбонови киселини и др., които често

имат неприятна миризма и вкус, а понякога и гразнесто действие. Външната употреба на окислени препарати може да доведе до нежелани алергични и кожни реакции, а вътрешната - до токсични прояви. Автоокислението може напълно да отстрани действието на биологично активни добавки като витамин А или Е и може не само да влоши качествата на фармацевтичните и козметични препарати, но и да ги направи напълно негодни.

Окислителна стабилност на тези препарати за по-дълъг



Фиг. 7.4. Концентрация на пероксиди (ПОЧ) при съхранение на козметичен препарат в банки с различен цвят

срок се постига чрез съхранение при по-ниска температура. За да имат и минимален контакт с кислорода на въздуха, те трябва да са в обеми, които максимално запълват обемите на съдовете, а опаковките трябва да са плътни, непроницаеми или вакуумирани. Предпазване от инициращото действие на видимата и ултравиолетова светлина се постига при съхранение в тъмни опаковки и помещения. Показателен пример в това отношение е сравнението между концентра-

цията на пероксиди в биосмулсия, съхранявана в банки от безцветно и тъмнокафяво стъкло, представено на фиг. 7.4.

Глава IV. ТРАНСПОРТ НА ВЕЩЕСТВА ПРЕЗ МЕМБРАНИ

§ 8. УВОД В МЕМБРАННИЯ ТРАНСПОРТ

§ 8.1. Същност и значение на мембрания транспорт

В биофизиката под *мембранен транспорт* или транспорт на вещества през биомембрани се разбират процесите, свързани с преминаването през мембраните на малки молекули или йони. В този смисъл към него не се отнася ендоцитозата - преминаването на макромолекули и по-големи частици или капки чрез образуване на вакуола (фагоцитоза), канал (пиноцитоза) или чрез някакъв друг механизъм. При всички видове транспорт се обменя вещество между клетката и околната ѝ среда като се пресича нейната мембрана. Това се отнася и до другите затворени структури в клетката – ядро, митохондрии, лизозоми и т. н.

Мембраните са бариера за по-голяма част от веществата, тъй като преминаването през липидната им фаза изисква значителна енергия. Въпреки това някои нискомолекулни съединения и водата проникват през тях изненадващо лесно. Това показва, че *проницаемостта на мембраните е високоизбирателна (селективна)*.

Транспортните процеси имат няколко важни *функции*:

- регулират обема на клетката, поддържат йонния състав и вътреклетъчната стойност на pH в тесни граници, необходими за проявяване активността на ензимите;

- екстрахират от средата и концентрират в клетката субстрати на енергийния и пластичен обмен (“гориво” и “строителни материали”), а също така извеждат от клетката токсични вещества и отпадни продукти;

- чрез специфични транспортни системи, наречени помпи, осъществяват преобразуване на енергията и създават йонни гради-

енсти, необходими за поддържане възбудимостта на нерви и мускули.

Значението на мембранный транспорт е огромно, тъй като цялата жизнена дейност на клетките се дължи на него. Генетични дефекти в транспорта на около 20 вещества са причина за редица заболявания. Различни фактори, които увреждат мембраните, водят до патологични състояния, тъй като нарушават мембранната проницаемост и транспорт. Те могат да бъдат възстановени чрез въздействие с подходящи лекарствени вещества. Ето защо изучаването на мембранный транспорт е много важно за медицината и особено за фармакологията и токсикологията.

§ 8.2. Видове мембранен транспорт

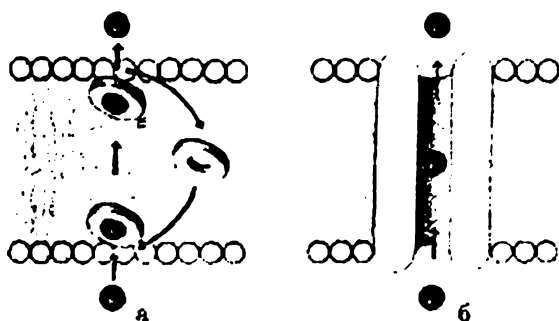
Мембранный транспорт се класифицира по вид според няколко признака.

- *В зависимост от броя и посоката на преминаващите през мембраната вещества* той е унипорт (инпорт или експорт) и съвместен транспорт (симпорт или антипорт). Транспортът е *унипорт*, ако се пренася едно вещество, а е *съвместен транспорт* (*котранспорт*), ако се пренасят едновременно две или повече вещества. Унипортът е *инпорт*, ако е насочен навътре, а е *експорт*, ако е насочен навън. Съвместният транспорт може да бъде *еднопосочен* (*симпорт*), *разнопосочен* (*антипорт*) и *обменна дифузия* (антипорт на едно и също вещество).

- *В зависимост от това дали транспортът променя или не променя трансмембранный електричен потенциал* той е електрогенен или електронеутрален. Типичен пример за *електрогенен* транспорт е антипортът на 3Na^+ и 2K^+ , осъществяван от съответната йонна помпа. Трансмембранный потенциал намалява, когато йоните се движат под действие на електричния градиент и нараства, когато те се движат срещу него. *Електронеутрален* е например симпортът на катион и анион или антипортът на два различни йона с еднакъв знак и заряд (Na^+ , K^+). Електронеутрален може да бъде и транспортът на аниони, които след това присъединяват протон и компенсират заряда си.

• В зависимост от молекулния механизъм мембраният транспорт може да се извършва без преносител и с помощта на преносител. Без преносител преминават и хидрофобни, и хидрофилни вещества. Първите са липоразтворими и преодоляват липидния бислой на мембраната чрез проста дифузия. За хидрофилните вещества бислойът би бил непроходима бариера, ако нямаше пори. Един от начините те да преминават през него е несвободната дифузия през пореста мембрана.

Някои вещества, които слабо дифундират през мембраната, могат многократно да увеличат скоростта си на дифузия, ако молекулите им образуват комплекс с молекулите на друго помощно вещество, наречено преносител (транслокатор). Този вид дифузия е известна под името *транспорт с преносители* или *облекчена (улеснена) дифузия*. Преносителите могат да бъдат подвижни и неподвижни. Веществото образува комплекс с *подвижния преносител* от едната страна на мембраната, пренася се заедно с него и се освобождава



Фиг. 8.1. Транспорт през мембраната с подвижен (а) и неподвижен преносител (б)

от другата страна на мембраната (фиг.8.1). Молекулата на преносителя се връща обратно и се свързва с нова молекула на пренасяното вещество. Предполага се, че преносителят има най-малко две стабилни конформации и при прехода между тях се про-

меня достъпът до свързващия център или афинитетът му към пренасяното вещество. Транспортът с *неподвижен преносител* се извършва чрез последователно свързване на веществото към трансмембранно подредени преносители или към функционални групи на един преносител, подобно на щафетно предаване. В биомембраните досега не е установено наличие на подвижни преносители. Счита се, че действащите в тях неподвижни преносители имат белтъчна природа.

- В зависимост от посоката на изменение на свободната енергия транспортът е пасивен и активен. Системата, образувана от мембраната и частиците в двата ѝ примембранни слоя, се характеризира от термодинамична въгледна точка със свободна енергия G . Нейното изменение ΔG е количествена мярка за извършената работа в системата (вж. § 2.3).

При *пасивния транспорт* системата върши работа за пренасяне на частици през мембраната и свободната ѝ енергия намалява ($\Delta G < 0$). Този екзергонен процес протича спонтанно (пасивно) под действието на съществуващ концентрационен и/или електричен градиент и води до тяхното понижение и анулиране. *Активният транспорт* е ендергонен процес ($\Delta G > 0$). Той не може да протича спонтанно, а за да протече, е необходима енергия. Частиците на веществото преминават от области с по-ниска концентрация или по-нисък електричен потенциал към области с по-висока концентрация или по-висок потенциал. Това увеличава стойностите на градиентите и повишава свободната енергия на системата.

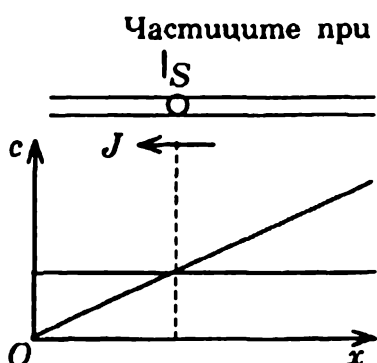
Свободната енергия, необходима за активен транспорт, е резултат от химични реакции. Тя се получава при хидролиза на АТФ и при окси-редукционни процеси и се преобразува в механична енергия с помощта на специфични транспортни системи, наречени *помпи*. Установено е, че по този начин през мембраните се пренасят малък брой йони (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и някои др.), а също и протони при работата на дихателната верига на митохондриите.

Различава се и *спрегнат транспорт*, при който едно вещество се пренася против електрохимичния градиент само ако едновременно с него друго вещество се пренася по посока на електрохимичния градиент. Необходимо условие за това е увеличението на свободната енергия $\Delta G' > 0$ при преноса на първото вещество да бъде по-малко от абсолютната стойност на намалението ѝ $\Delta G'' < 0$ при преноса на второто вещество, така че общото изменение да бъде $\Delta G = \Delta G'' + \Delta G' < 0$. Активният транспорт на първото вещество в този случай се нарича още *вторично активен* за разлика от активния транспорт с помощта на помпи, наричан *първично активен*.

§ 8.3. Свободна дифузия на незаредени частици

Дифузията се разглежда във физиката заедно с други процеси на пренос. Това са необратими процеси, в резултат на които в една система се пренася вещество (дифузия), импулс (вътрешно триене), топлинна енергия (топлопроводност) и електричен заряд (електропроводимост). Дифузията е спонтанен процес на проникване на вещество от област с по-висока концентрация в област с по-ниска концентрация в резултат на топлинното хаотично движение на неговите частици (атоми, йони, молекули). Движението на частиците е хаотично само когато върху тях не действат външни полета като например гравитационно, електрично и др.

Ако частиците на веществото проникват от една област в друга, която е в непосредствен контакт с нея, дифузията се нарича *свободна*. Ако процесът се извършва през някаква пореста преграда (*мембрана*), дифузията е *несвободна*. Несвободната дифузия на течности може да бъде дифузия през *обикновена мембрана* или дифузия през *полупроницаема мембрана* в зависимост от това дали мембраната пропуска течностите и разтворените в тях вещества или пропуска само частиците на разтвореното вещество. Освен това дифузията може да бъде *проста* или *облекчена* в случай, че частиците на дифундиращото вещество се движат самостоятелно или с помощта на други частици, наречени *преносители*, с които образуват комплекси.



Фиг. 8.2. Модел и графично представяне на еднородна дифузия

Частичките при дифузия се движат във всички посоки на пространството, т. е. дифузията е *тримерна*. За простота обаче ще разгледаме *едномерна дифузия*, която се извършва само в една посока - например в посока, обратна на оста Ox . Този процес може да бъде моделиран с разтвор, поставен в тънка дълга тръба със сечение S , като концентрацията на разтвора с нараства равномерно с нарастване на x (фиг. 8.2).

В случай на *стационарна дифузия* количеството вещество, внесено във всяка точка x , е равно на коли-

чеството, изнесено от тази точка, така че концентрацията не зависи от времето, а само от разстоянието: $c = f(x)$. *Плътност на поток вещество* (моментен масов дебит) J е елементарната маса dm , пренесена за елементарен интервал от време dt през единица напречно сечение:

$$J = \frac{dm}{S dt} . \quad (8.1)$$

Съгласно *първия закон на Фик* (A. Fick) плътността на потока вещество J е пропорционална на градиента на концентрацията $\frac{dc}{dx}$:

$$J = -D \frac{dc}{dx} . \quad (8.2)$$

Знакът минус означава, че плътността на потока има посока, противоположна на посоката на градиента, т. е. преносът е по посока на по-ниската концентрация. Коефициентът D определя големината на J ($D = J$, ако $\frac{dc}{dx} = 1$), т. е. той е мярка за скоростта на дифузията и се нарича *коефициент на дифузия*. Обикновено се изразява чрез параметри от молекулно-кинетичната теория. Мерната единица за D е квадратен метър за секунда:

$$[D] = \frac{m^2}{s} .$$

При движение на сферични частици с радиус r в среда с вискозитет η е в сила законът на Стокс (G. Stokes) за силата на триене: $F_s = 6\pi\eta r v$. В този случай за коефициента D се получава *уравнението на Стокс-Айнщайн*:

$$D = \frac{RT}{6\pi\eta r N_A} , \quad (8.3)$$

където R е универсалната газова константа, T - абсолютната температура, а N_A - константата на Авогадро. За вещества със сферични молекули с молекулна маса M и плътност ρ

$$M = \rho \frac{4}{3} \pi r^3 .$$

При постоянни T и η от (8.3) се намира следната връзка между коефициента на дифузия и молекулната маса:

$$DM^{\frac{1}{3}} = \text{const.}$$

Тази зависимост е потвърдена експериментално за дифузия във вода на големи белтъчни молекули с почти сферична форма (молекули на рибонуклеаза). За малки молекули (от водород до тризахариди) експериментът дава друго съотношение:

$$DM^{\frac{1}{2}} = \text{const.}$$

Отклонението от теорията се дължи на това, че малките молекули не могат да се разглеждат като сферични. Освен това малките молекули са сравними по размери с молекулите на водата и за тях водата не е идеално хомогенна течност.

В най-общия случай на *нестационарна дифузия* концентрацията във всяка точка по оста Ox се менни не само с разстоянието, но и с времето t , т. е. $c = f(x, t)$. Изменението с времето $\frac{\partial c}{\partial t}$ се изразява с градиента на потока по следния начин:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = - \frac{\partial J}{\partial x}.$$

След заместване тук на първия закон на Фик (8.2) се получава *вторият закон на Фик*:

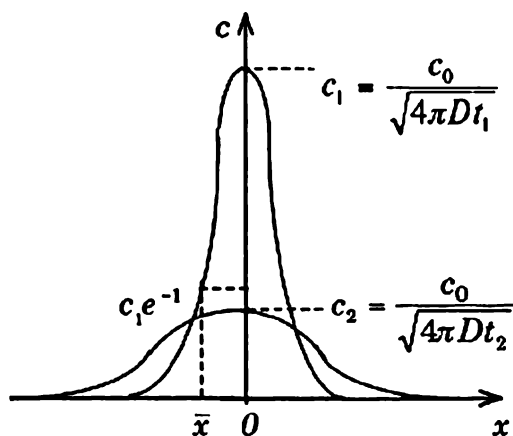
$$\boxed{\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}}. \quad (8.4)$$

Решението на това частно диференциално уравнение от втори ред има вида:

$$\boxed{c = \frac{c_0}{\sqrt{4\pi Dt}} e^{-\frac{x^2}{4Dt}}}. \quad (8.5)$$

В него c е концентрацията в произволна точка x в произволно избран момент t , e – числото на Непер, а c_0 е цялото количество вещество, внесено в началния момент $t = 0$ в точката $x = 0$. Зависимостта на c от координатата x в определен момент (при фикси-

рана стойност на t) се представя графично със симетрична камбановидна крива (фиг. 8.3). С увеличаване на времето нейният максимум намалява, а ширината ѝ става все по-голяма. Това показва, че концентрацията нараства с времето в отдалечените от началната точка части на кривата, т. е. дифузията изравнява разликата в концентрациите.



Фиг. 8.3. Промяна на концентрацията с разстоянието при две стойности на времето според втория закон на Фик

От решението на уравнението (8.5) може да се намери онова разстояние $\bar{x}$ от началната точка $x = 0$, на което концентрацията намалява e пъти. Това е изпълнено, ако степенният показател стане равен на единица:

$$\frac{\bar{x}^2}{4Dt} = 1, \quad \boxed{\bar{x} = \sqrt{4Dt}}. \quad (8.6)$$

Средноквадратичното разстояние $\bar{x}$, както и коэф-

фициентът D , се използва като мярка за скоростта на дифузията.

§ 8.4. Дифузия на йони, уравнение на Нернст-Планк

Наличието на електрично поле влияе върху дифузията на заредени частици (йони и електрони). В този случай частиците дифундират не само под действие на концентрационния градиент, но и под действие на градиента на електричния потенциал. Дифузията на заредени частици под действие на електрично поле се нарича *електродифузия*. Електричните градиенти в живите клетки са резултат от различната концентрация на йони от двете страни на техните мембрани и са движещи сили при трансмембрания транспорт на йони.

Силата, с която електрично поле с интензитет E действа на един йон със заряд ze_0 , е $f_i = ze_0 E$. Тук z е броят на зарядите, а e_0 - зарядът на електрона. Силата f , действаща на един мол йони, се

получава като f , се умножи по броя на йоните в 1 мол N_A . Ако интензитетът на полето се изрази с градиента на електричния потенциал $E = -\frac{d\varphi}{dx}$, силата f добива вида:

$$f = -ze_o N_A \frac{d\varphi}{dx} \quad \text{или} \quad \boxed{f = -zF \frac{d\varphi}{dx}}. \quad (8.7)$$

Тук $F = e_o N_A$ означава *константата на Фарадей*.

Плътността на потока дифундиращи частици J може да се представи чрез тяхната скорост v и моларна концентрация c като изразът (8.1) се преобразува така:

$$J = \frac{dm}{S dt} = \frac{dm}{S dx} \frac{dx}{dt} = \frac{dm}{dV} \frac{dx}{dt} = cv \quad \text{или} \quad \boxed{J = cv}. \quad (8.8)$$

В горното равенството dV е елементарният обем с дължина dx , в който се намират йоните с маса dm , преминали през площта S за време dt , движейки се със скорост v .

Скоростта на насоченото движение на йоните е постоянна, ако освен движещата сила f върху тях действа и друга сила, равна и противоположна на първата, например триене или удари с други частици. Тогава скоростта е пропорционална на движещата сила и коефициентът на пропорционалност u се нарича *дифузионна подвижност*:

$$\boxed{v = uf}. \quad (8.9)$$

Плътността на електродифузионния поток J се намира като в израза за него (8.8) се заместят получените изрази за v (8.9) и f (8.7):

$$\boxed{J = -uc zF \frac{d\varphi}{dx}}. \quad (8.10)$$

Изобщо дифузията на заредени частици се дължи както на неравномерност в тяхното разпределение, т. е. наличие на концентрационен градиент, така и на въздействие на електрично поле. Общият израз за плътност на потока, който е сума от плътностите на дифузионния и електродифузионния поток, носи името *уравнение на Нернст-Планк*:

Айнщайн е показал, че

$$D = uRT \quad (8.12)$$

След заместване на този израз уравнението (8.11) добива вида:

$$J = -D \left(\frac{dc}{dx} + c \frac{zF}{RT} \frac{d\varphi}{dx} \right) \quad (8.13)$$

Ако се въведе величината *безразмерен потенциал* ψ , която включва потенциала φ и неговия коефициент от константи, т.е.

$$\psi = \frac{zF}{RT} \varphi \quad (8.14)$$

видът на уравнението значително се опростява:

$$J = -D \left(\frac{dc}{dx} + c \frac{d\psi}{dx} \right) \quad (8.15)$$

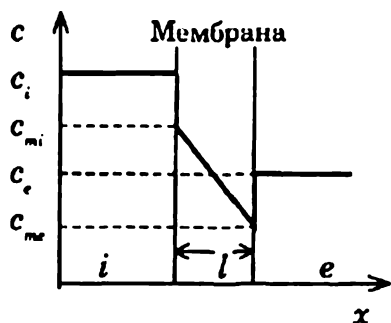
§ 9. НЕСВОБОДНА ДИФУЗИЯ

§ 9.1. Несвободна дифузия през пореста мембрана

Чрез проста дифузия през мембраната на жива клетка могат да преминават само малки молекули като O_2 , CO_2 , някои лекарствени вещества и отрови. Тогава за незаредените частици е приложим законът на Фик, а за заредените – уравнението на Нернст – Планк. Възможно е полярни частици да пресичат хидрофобната част на липидния бислой и по механизма преместване на кинкове (вж. § 6.4). Скоростта на простата дифузия обаче е твърде ниска, за да осигури обмяната на онези количества вещества, необходими на живата клетка. Това става по други начини, възникнали в процеса на еволюцията, а именно чрез дифузия през пори в мембраната и с помощта на преносители (облекчена дифузия).

Порите и каналите са белтъци, пресичащи мембраната. Хидрофобната им част е захваната към хидрофобната част на би-

слоя, а хидрофилната извразжда вътрешността им. През тях веществата преминават пасивно под действие на електрохимичния градиент. Разликата между пори и канали се състои в това, че йонните канали обикновено са затворени и се отварят за кратко време в отговор на определени въздействия (стимули), докато порите са постоянно отворени. Затова каналите се наричат още канали с регулируема проницаемост, а порите – канали с нерегулируема проницаемост. Освен това някои от първия вид канали са с висока селективност и пропускат само определен вид йони, напр. натриеви, калиеви и др., но има и неселективни канали.



Фиг. 9.1. Изменение на концентрацията при пореста мембрана

Дифузията през пореста (обикновена) мембрана се описва с уравнения, изведени от закона на Фик при някои ограничителни допускания. Предполага се, че концентрациите на дифундиращото вещество от двете страни на мембраната са постоянни във времето, което е възможно при достатъчно големи обеми. При ограничени обеми, каквито са клетките, постоянството на концентрациите е резултат от дей-

ствието на специализирани структури в техните мембрани (помпи). Освен това се приема, че концентрацията вътре в мембраната е по-ниска, отколкото близо до нея и че в мембраната тя се изменя линейно.

В случай на клетъчна мембрана за концентрациите се използват следните означения (фиг. 9.1) :

c_i – вътре в клетката, c_e – извън нея (например $c_i > c_e$);

c_{mi} и c_{me} – концентрации вътре в мембраната – съответно близо до вътрешната и близо до външната ѝ повърхност. Присма се още, че промените на концентрацията и на двете мембранни повърхности са еднакви, т. е.

$$\frac{c_{mi}}{c_i} = \frac{c_{me}}{c_e} = k \quad (9.1)$$

Отношението на концентрациите k се нарича *коэффициент на разпределение на веществото* между мембраната и околната среда и има стойности в интервала $0 < k < 1$.

Тогава за мембрана с дебелина l законът на Фик (8.2) придобива вида:

$$J = -D \frac{dc}{dx} = -D \frac{c_{me} - c_{mi}}{l} = -D \frac{k(c_e - c_i)}{l} .$$

Ако означим $c_i - c_e = \Delta c$, $P = \frac{kD}{l}$, (9.2)

за плътността на потока вещество J се получава уравнението на Коленгер – Берлунд (R. Collander, H. Barlund):

$$J = P \Delta c . \quad (9.3)$$

P се нарича *коэффициент на проницаемост на мембраната* и се измерва в единици m/s . Той зависи от свойствата на мембраната (k и l), а посредством D според (8.3) - и от температурата на средата, от вискозитета η , от формата и размерите на дифундиращите частици. От друга страна коэффициентът на разпределение k се изразява като отношение на общото напречно сечение на порите S и площта на мембраната S_m . Ако порите са с радиус r , а техният брой е N ,

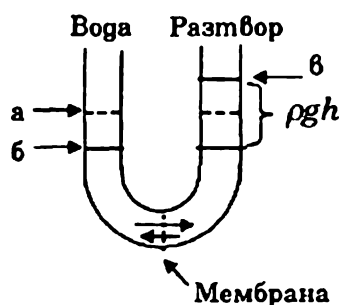
$$k = \frac{S}{S_m} = \frac{\pi r^2 N}{S_m} = \pi r^2 n ,$$

където n е броят на порите на единица площ от мембраната.

Уравнението (9.3) е приложимо за биологични мембрани, тъй като са тънки и е изпълнено условието $\frac{dc}{dx} = \frac{\Delta c}{l}$, но измерените стойности на P не винаги съвпадат с изчислените теоретично. Това се обяснява с анизотропията на тези мембрани, с особеностите на двата примембранни слоя и порите, с наличието на електрични заряди, с разлики в разтворимостта на веществата, концентрацията на йони, стойностите на рН и др. При тези условия линейното изменение на потенциала в мембраната се нарушава.

§ 9.2. Осмоза и филтрация

Полупроницаемите мембрани се различават по състав, структура, големина на порите и проницаемост за различни вещества. По произход те са естествени (животински) и изкуствени. Някои от тях пропускат само разтворителя, а други - разтворителя и разтворени в него малки молекули и йони, но не пропускат макромолекули и колоидни частици. Възприето е първите да се наричат *идеални*, а вторите – *неидеални* полупроницаеми мембрани или мембрани със *селективна проницаемост*. Несвободната дифузия на течностите и на някои от разтворените в тях вещества през полупроницаеми мембрани се нарича *осмоза*.



Фиг. 9.4. Осмоза: а – начално ниво, б и в – крайни нива, ρgh – хидростат. налягане

Осмоза може да се наблюдава в U-видна стъклена тръба, разделена на две равни части с полупроницаема мембрана, която пропуска само вода (фиг. 9.4). От едната страна на мембраната се налива вода, а от другата – воден разтвор на захар. Молекулите на захарта не преминават през мембраната, а водните преминават през нея в двете посоки. Водният поток към разтвора обаче е по-голям от водния поток

към чистата вода, тъй като броят на водните молекули в разтвора е по-малък. Това води до понижаване нивото на водата и до повишаване нивото на разтвора. Този процес спира тогава, когато хидростатичното налягане ρgh стане достатъчно високо, за да уравни налягането на дифузионния поток.

Молекулите на разтвореното вещество упражняват налягане върху стените на съда вследствие на топлинното си движение. Според *теорията на Вант Хоф* (J. Vant' Hoff) това налягане е причина за осмозата и се нарича *осмотично налягане*. То се обуславя от молекулите на разтвореното вещество, тъй като те не могат да преминат през мембраната и броят им е равен на разликата в броя на молекулите на разтворителя от двете ѝ страни. Тази разлика в концентрациите е движеща сила за молекулите на разтворителя.

В силно разреждени разтвори молекулите на разтвореното вещество се намират далеч една от друга и подобно на молекулите на газовете си взаимодействат слабо. Те се различават от молекулите на газовете по това, че между тях се намират молекулите на разтворителя, с които непрекъснато се удрят. Вант Хоф обяснява осмотичното налягане аналогично на налягането на газовете - с броя на ударите на молекулите на разтвореното вещество. От основното уравнение на състоянието за газовете се получава *законът на Вант Хоф* за осмотичното налягане π :

$$\pi = RTc \quad (9.4)$$

Вижда се, че осмотичното налягане не зависи от вида на разтворителя, а само от концентрацията на разтвореното вещество c и от абсолютната температура на разтвора T . Коефициент на пропорционалност е универсалната газова константа R . При електролити дисоциацията на молекулите увеличава броя на разтворените частици и осмотичното налягане се повишава. Това се отчита чрез въвеждане на *изотоничен коефициент* i , който за не-електролити е $i = 1$, а за електролити $i > 1$ и зависи от степента на дисоциация. Тогава

$$\pi = iRTc.$$

Осмотичното налягане се измерва в единици за налягане, най-често в килопаскали (kPa). За оценка на осмотичното налягане се използват величините *осмоларитет* и *осмолалитет*, които представляват моларната или молалната концентрация на осмотично активните частици и се измерват съответно в единиците осмол на литър (osmol/l) и осмол на килограм (osmol/kg). Така разтвор на не-електролит ($i = 1$) с концентрация $c = 1 \text{ mol/l} = 10^{-3} \text{ mol/m}^3$ при температура $T = 293 \text{ K}$ (20°C) има осмоларитет 1 osmol/l и осмотично налягане $\pi = 8,31.293.10^{-3} = 2,43 \text{ kPa}$.

Два разтвора с равни осмотични налягания се наричат *изоосмотични*. Ако се намират в осмотично равновесие, без да обменят разтворител, те са *изотонични*. Равновесието се постига или чрез изравняване на концентрациите на разтворените вещества от двете страни на мембраната, или чрез преминаване на разтвори-

теля през нея от по-разредения към по-концентрирания разтвор. Първият (по-разреденият) разтвор е *хипотоничен* спрямо втория, който пък е *хипертоничен* спрямо първия.

Осмозата е основният процес, чрез който се извършва обмяната на веществата във всички организми. Водата от хипотоничната среда прониква в клетките дотогова, докато осмотичните налягания на средата и клетката не се изравнят или докато парасналото хидростатично налягане в клетката и еластичното противодействие на мембраната не уравнилият осмотичното налягане. Тогава клетките се издуват и може да настъпи *лизис* - мембраните им да се разкъсат, а съдържанието на клетките да се излее навън. Водата излиза от клетките, поставени в хипертоничен разтвор и те се свиват – получава се *плазмолиза*.

Филтрацията е движение на течност през порите на мембрана под действие на хидростатичното налягане. Плътността на обемния поток J_v при филтрацията през мембрана с дебелина l се намира според закона на Поазьо (J. Poiseuille) от потока през една пора с радиус r , умножен по броя на порите на единица площ n :

$$J_v = n \frac{dV}{dt} = n \frac{\pi r^4}{8\eta} \frac{\Delta p}{l} \quad (9.5)$$

Тук η е вискозитетът на течността, а $\Delta p = \rho g \Delta h$ - разликата в хидростатичните налягания от двете страни на мембраната. За конкретна течност и мембрана коефициентът пред Δp е постоянна величина и се нарича *коефициент на филтрация* или *хидравлична пропускателност*

$$L_p = n \frac{\pi r^4}{8\eta l}$$

Тогава плътността на потока е

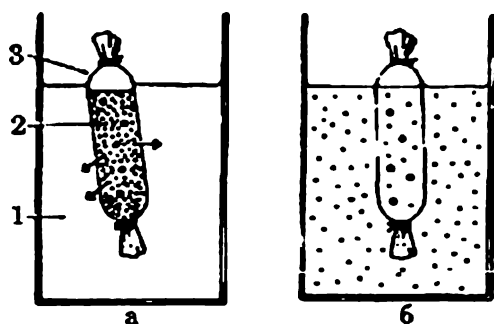
$$J_v = L_p \Delta p \quad (9.6)$$

Плътността на потока течност при осмоза през идеална полупроницаема мембрана се представя аналогично, като Δp се замени с $\Delta \pi$:

$$J_v = L_p \Delta \pi \quad (9.7)$$

§ 9.3. Диализа и хемодиализа

Диализата е метод за разделяне на високомолекулни съединения и колоидни частици от



Фиг. 9.5. Диализа: а - начално, б - крайно състояние; 1 - разтворител, 2 - пречистван разтвор, 3 - мембрана

нискомолекулни примеси и йони, съдържащи се в разтвори, чрез осмоза през неидеална полупроницаема мембрана. Използва се най-често за пречистване на разтвори с помощта на уреди, наречени *диализатори*. Най-простият диализатор се състои от два съда, единият от които е поставен в другия и

поне едната му стена е от подходяща полупроницаема мембрана (фиг. 9.5). Пречистваният разтвор се налива във вътрешния съд, а външният първоначално съдържа само чист разтворител. Само малките молекули и йони от разтвора преминават през мембраната в съда с разтворителя, а големите остават. За да се извлекат от разтвора всички малки частици е необходимо разтворителят да се поддържа чист. Това става като той се сменя често или като се пропуска непрекъснато, както е в проточните диализатори. Диализата може да бъде ускорена, ако се използва и електрично поле за привличане на йоните. Този метод се нарича *електродиализа*.

Диализата се прилага и при остри и хронични бъбречни заболявания - за пречистване на кръвта от токсични вещества, които нормално се отделят чрез бъбреците (урея, никотина киселина и др.). В този случай тя се нарича *хемодиализа*, а апаратите - *хемодиализатори* или *изкуствени бъбреци*. Кръвта от тялото на болния се отклонява от някоя артерия (обикновено лъчевата) и протича през съд извън тялото, наречен хемодиализна камера, чиито стени са от подходяща мембрана (целофан, купрофан и др.). За получаване на по-голяма повърхност камерата се оформя като спирално навита тръба или пространство между плоски листове мембрани. Тя се поставя във втори съд, така че от външната ѝ страна може да се пропуска темпериран диализен разтвор, близък по йонен състав до

нормална кръв (съдържа Na, K, Ca, Mg, ацетати, хлориди, глюкоза). При хемодиализата от кръвта в разтвора преминават токсичните нискомолекулни вещества, а от диализния разтвор в кръвта се внасят необходимите йони.

§ 9.4. Обмяна на вода през мембрани и между кръвта и тъканите

Обмяната на вода през биологичните мембрани се извършва чрез филтрация и осмоза. Биомембраните не са идеални полупроницаеми мембрани, тъй като освен вода пропускат в различна степен и някои разтворени в нея вещества. Теорията на осмозата през такива мембрани се опростява, ако се приеме, че водата и разтвореното вещество преминават през мембраната по един и същ път, както е запълнената с вода пора. Освен това за простота се приема, че във водата има само едно разтворено вещество. Тогава взаимодействието между двата стационарни потока може да се опише с уравненията на Онзагер от линейната неравновесна термодинамика (3.2).

Плътността на обемния воден поток J_v и плътността на потока на разтвореното вещество J_D през мембраната, отчитан спрямо водния поток, са свързани с обобщените сили Δp и $\Delta \pi$ по следния начин:

$$\begin{aligned} J_v &= L_p \Delta p + L_{pD} \Delta \pi, \\ J_D &= L_D \Delta \pi + L_{pD} \Delta p. \end{aligned}$$

Тук коефициентът L_p е хидравличната проницаемост на идеална полупроницаема мембрана, а L_D – коефициентът на проницаемост за разтвореното вещество. Коефициентът L_{pD} показва какъв е приносът на осмотичното налягане в обемния поток и какво влияние има хидростатичното налягане за отделяне на потока разтворено вещество от водния поток.

В зависимост от вида на мембраната са възможни три случая. При *обикновени мембрани*, които са с големи пори, няма осмоза ($L_{pD} = 0$, $L_D = 0$). Тогава обемният поток J_v пренася и разтворено вещество:

$$J_v = L_p \Delta p.$$

През *идеална полупроницаема мембрана* преминава само водният поток. През нея няма поток на разтворено вещество, а тъй като то е неподвижно спрямо мембраната, потокът му спрямо водата е

$$J_D = -J_V.$$

Това означава, че $L_D \Delta\pi + L_{pD} \Delta p = - (L_p \Delta p + L_{pD} \Delta\pi)$

или $(L_p + L_{pD}) \Delta p + (L_D + L_{pD}) \Delta\pi = 0,$

откъдето следва, че $L_p = -L_{pD} = L_D.$

Плътността на обемния поток в този случай придобива вида:

$$J_V = L_p (\Delta p - \Delta\pi).$$

За *неидеални полупроницаеми мембрани* Ставерман въвежда *коэффициент на отражение* σ :

$$\sigma = -\frac{L_{pD}}{L_p}.$$

Плътността на обемния поток при тях е

$$J_V = L_p \left(\Delta p + \frac{L_{pD}}{L_p} \Delta\pi \right),$$

$$\boxed{J_V = L_p (\Delta p - \sigma \Delta\pi)}. \quad (9.8)$$

От получените изрази за трите вида мембрани се вижда, че *коэффициентът на отражение* има стойности в интервала

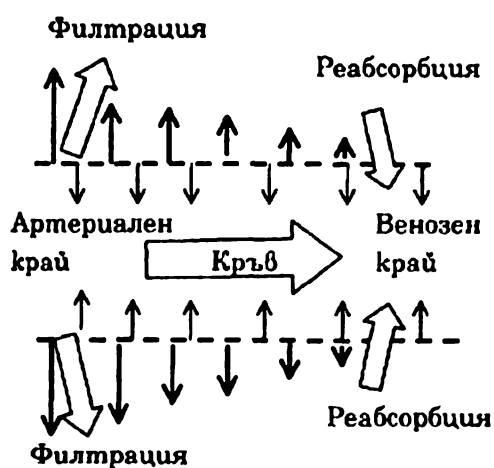
$$0 \leq \sigma \leq 1. \quad (9.9)$$

Той е 0 за обикновена мембрана, която пропуска вода и разтворено в нея вещество. Идеалната полупроницаема мембрана напълно отразява частиците на разтвореното вещество и за нея $\sigma = 1$. Коэффициентът на отражение е между тези стойности, когато мембраната пропуска само част от молекулите на разтвореното вещество.

Фiltrацията и осмозата имат голямо значение за *обмяната на вода между кръвта и тъканите*. Осмотичното налягане на кръвта е сума от наляганята на всички вещества в кръвната плазма. Нискомолекулните обаче не са осмотично активни, тъй като преминават свободно през стениите на капилярите и имат приблизително еднаква концентрация в кръвта и в тъканната (интерстициалната) течност. Такива са Na^+ , Cl^- , глюкоза и други водоразтворими вещества, които дифундират през пълните с вода

пори. Липоразтворимите като алкохол, а също O_2 и CO_2 преминават през стените на капилярите още по-лесно.

Концентрацията на високомолекулни съединения (белтъци) е по-висока в плазмата, отколкото в тъканната течност. Белтъците не преминават през порите на капилярите, но могат да преминават през стените на капилярите чрез пиноцитоза. Осмотичното налягане, създавано от тях, се нарича *колоидно-осмотично* или *онкотично*. То е около 200 пъти по-ниско от общото осмотично налягане, което би се получило при идеална полупроницаема мембрана. Резултатното онкотично налягане върху стените на капилярите е разлика между онкотичните налягания на кръвта и тъканната течност спрямо вода и е насочено към кръвта. То е около 20 mm Hg (2,7 kPa) и може да се приеме за постоянно по цялата им дължина (фиг. 9.6).



Фиг. 9.6. Обмяна на вода между кръвта и тъканите: онкотично ($\downarrow$) и хидростатично налягане ($\downarrow$).

От друга страна и кръвта, и интерстициалната течност действат на стените на капилярите с *механично* (хидростатично) налягане, обусловено от техния обем. Хидростатичното налягане на кръвта е насочено навън и е позволено в артериалния край, а по-малко - във венозния край на капилярите. За разлика от него хидростатичното налягане на тъканната течност е насочено към стените на капилярите и е сравнително постоянно. Резул-

тантното хидростатично налягане в артериалния край е около 30 mm Hg, а във венозния край е около 15 mm Hg и е насочено навън от капилярите.

Следователно в артериалната част на капилярите се извършва транспорт на вода от кръвта към тъканите (*филтрация*), а във венозната се получава реабсорбция на водата от тъканната течност към кръвта (*осмоза*). Средната скорост на филтрацията

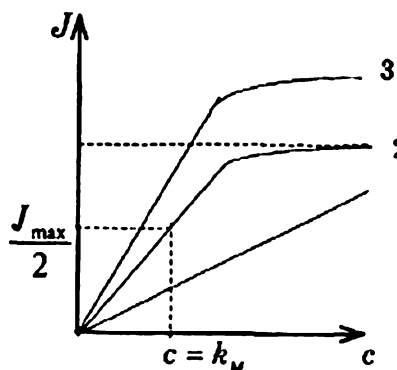
във всички капилляри на човек е около 20 литра на денонощие, а на реабсорбцията – 18. Съгласно класическата теория на Старлинг между обема течност, филтриращ се в артериалния край на капиллярите и реабсорбиращия се обем в техния венозен край при нормални условия има динамично равновесие. В случай, че това равновесие се наруши, започва преразпределение между вътрестрещовата и междуклетъчната течности.

Филтрацията се увеличава при повишаване на кръвното налягане, физическо натоварване, изправяне на тялото в отвесно положение, увеличаване обема на кръвта след преливане на течности, понижаване на онкотичното налягане на кръвта (напр. при хипопротеинемии), натрупване на осмотично активни вещества в интерстициалната течност и др. Реабсорбцията, напротив, нараства под действие на изброените фактори в противоположна посока.

Наблизането на течност в интерстициалното пространство нараства и при повишаване *проницаемостта на капиллярните стени*. Това може да стане под действието на вещества (кинини, хистамин и др.), отделящи се при алергични реакции, възпаление, изгаряния, наранявания и др., както и при различни физиологични състояния. То лесно би довело до *възникване на отоци*, ако интерстициалното пространство беше лесно разтегливо и ако събраната тъканна течност не се отделяше по лимфатичните съдове. Отоци се получават едва когато тъканната течност превиши с повече от 30 % нормалния си обем.

§ 9.5. Облекчена (улеснена) дифузия

Установено е, че алкозола, аминокиселини, глицерол и др. вещества проникват в клетката със скорост, която не зависи линейно от разликата в концентрациите им от двете страни на мембраната. При неголяма концентрационна разлика *плътността на масовия поток J е много по-голяма*, отколкото при проста дифузия, а над определена стойност на тази разлика *потокът почти не се променя* (фиг. 9.7). Това показва, че в случая не е в сила законът на Фик, т. е. тези вещества не се пренасят чрез проста дифузия.



Фиг. 9.7. Проста (1), облекчена (2) и реална дифузия (3)

Кинетиката на процеса е аналогична на зависимостта между скоростта на една ензимна реакция и концентрацията на субстрата. Ролята на катализатор играе вещество, наречено *преносител* (*транслокатор*) и затова този вид дифузия е известна като *каталитична* или *облекчена* (*улеснена*) *дифузия*. Молекулите на преносителя и пренасяното вещество се

свързват в комплекс, който при подвижните преносители дифундира през мембраната. Неподвижните преносители се разглеждат като канали (пори) в мембраната, запълнени с вода или съдържащи последователно разположени функционални групи за свързване и щафетно предаване на веществото.

В биологичните мембрани все още не е открит транспорт с подвижни преносители. Белтъците не могат да служат за такива, тъй като не извършват напречна дифузия, но могат да бъдат каналобразуватели. Сега известните природни системи за транспорт са каналите. Реалният дифузионен поток винаги включва както облекчена, така и проста дифузия (фиг. 9.7).

Плътността на дифузионния поток при концентрация в клетката $c_i = 0$ и извън нея $c_o = c$ се описва с уравнение, аналогично на *уравнението на Михаелис-Ментен* (L. Michaelis-M. Menten):

$$J = \frac{J_{\max} c}{k_M + c} \quad (9.10)$$

Константата k_M носи името константа на Михаелис-Ментен. От уравнението се вижда, че :

- ако $c \ll k_M$, то $J = \frac{J_{\max}}{k_M} c$, т. е. получава се законът на

Фик, тъй като $J_{\max}$ и k_M са константи;

- ако $c = k_M$, то $J = \frac{J_{\max}}{2}$, т.е. k_M има смисъл на такава кон-

центрация, която осигурява плътност на масовия поток, равна

на половината на максималната;

- ако $c \gg k_m$, то $J = J_{\max}$, т. е. плътността на потока не зависи от концентрацията и има максимална стойност.

Последният извод се обяснява с изчерпването на свободните преносители, тъй като при високи концентрации на веществото всички те са образували комплекси с него и участват в транспорта (*насищане на преносителя*).

Освен с по-голямата си скорост при неголеми концентрации и с областта на насищане облекчената дифузия се отличава от простата и със следните особености:

- *висока специфичност*, свързана със способността на преносителите да различават близки по структура съединения (напр. L- и D-изомери на захарите и аминокиселините);

- чувствителност към ниски концентрации на *инхибитори*, които имат структурно сходство с транспортираните молекули и конкурентно се свързват с преносителите (напр. D-глюкоза и D-галактоза).

Съществуват и преносители, които имат два центъра за свързване. В този случай транспортът на едното вещество през мембраната зависи от присъствието на другото. Пример за такава система е симпортът на някои аминокиселини с Na^+ в еритроцитите и в епителните клетки на червата.

Движеща сила на облекчената дифузия е концентрационният и/или електричният градиент. Затова облекчената дифузия представлява *пасивен транспорт* с преносители, но (както и простата) води до намаляване на градиентите и установяване на равновесие в системата.

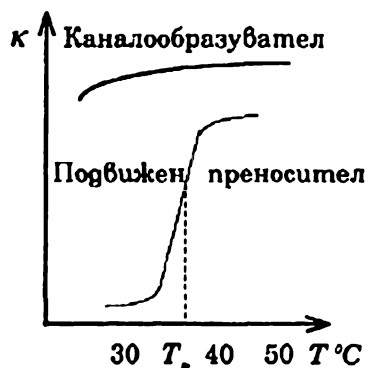
§ 9.6. Йонофори

Йонофорите са природни или синтетични небелтъчни вещества (но могат да бъдат пептиди) с известна структура, които избиращелно *усилват дифузията на йони през мембрани*, но не са естествени преносители. Те могат да образуват с йона комплекс с големи размери (подвижен преносител) или да оформят пора в мембраната, запълнена с вода (неподвижен преносител или кан-

алообразувател). Използват се за експериментални изследвания на механизмите на транспорт при БЛМ и липозоми.

Открити са и вещества, наречени *блокери*, които могат избирателно да блокират дифузията на йони през мембраната. Към тях спада *тетродотоксинът*, който блокира дифузията на натриеви йони. Клетките, обработени с него, губят способността си за възбуждане. Изследването на механизма на действие на подобни вещества върху мембраните представлява голям интерес за медицината, тъй като разкрива възможности за създаване на нови ефективни анестетици (вж. § 13.4).

Видът на йонофора може да се определи по зависимостта на



Фиг. 9.8 Зависимост на йонната проводимост от температурата

йонната проводимост κ от температурата (фиг. 9.8). Тя се получава експериментално за БЛМ, съдържаща йонофор, в температурен интервал около температурата на фазовия преход. Активността на подвижния преносител се дължи на дифузията му през въглеводородния слой на мембраната и втвърдяването на този слой значително намалява неговата ефективност. Втвърдяването обаче не оказва съществено влияние

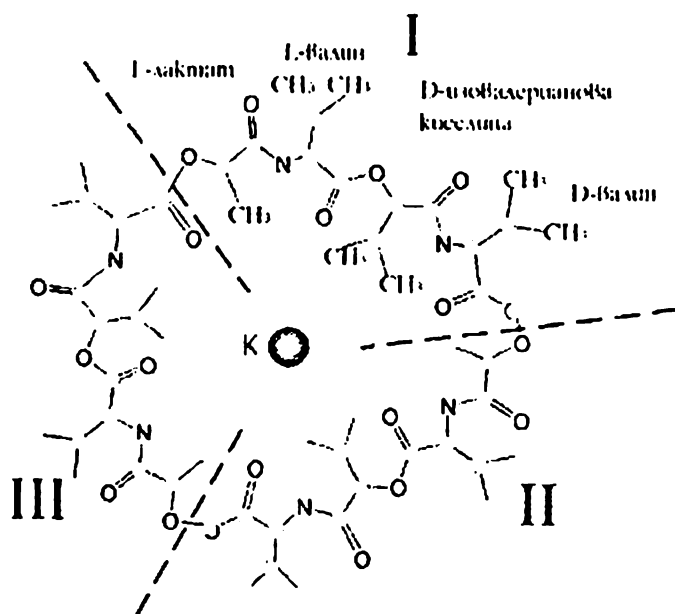
на способността на каналобразувателя да транспортира йони през мембраната, тъй като самият той не дифундира.

Фиг. 9.8 илюстрира резултатите от експерименти с два йонофора (валиномицин и грамицидин А), всеки действащ по един от тези два механизма. Проницаемостта на БЛМ, съдържаща валиномицин, нараства повече от 1000 пъти при втечняването ѝ (мащабът по ординатата е логаритмичен), докато втечняването на мембраната почти не променя транспортната активност на грамицидина.

• Йонофори подвижни преносители - валиномицин

Централно място сред йонофорите подвижни преносители заемат отделяните от микроорганизми *макроциклични антибиотици, както и синтетичните макроциклични комплексни съединения (комплексоци)*. Някои от тях са *неутрални*, тъй като не съдържат йонизиреми групи. Това са *циклични полипептиди и депсипептиди*, съставени от редуващи се аминокиселини и α -оксокиселини. Към последните спада валиномицинът, неговите аналози и антибиотиците от енуатиновата група. Комплексите, образувани от неутралните йонофори с йоните на алкалните метали, са положително заредени.

По данни от рентгеноструктурен анализ и спектроскопски изследвания антибиотиците подвижни преносители имат *обща структура, която прилича на орехова черупка*. Единственият свързан йон на метала образува координативни връзки с няколко атома на кислорода (обикновено 6 или 8), обкръжаващи централната кухина на йонофора. Периферната част от структурата на йонофора се състои от въглеводородни групи.



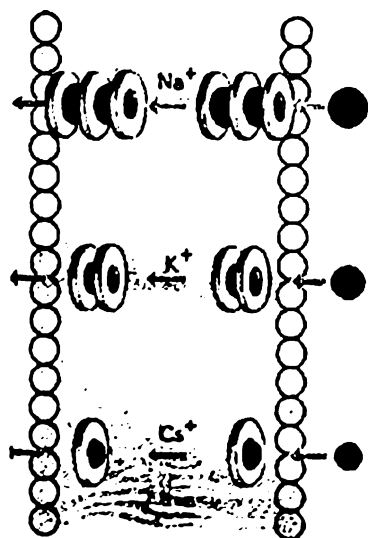
Фиг. 9.9. Схема на молекулния строеж на валиномицина и комплекса му с K^+

Във водна среда металният йон (напр. K^+) с *хидратиран*, т. е. чрез кислорода на водните молекули той е свързан с няколко молекули вода. Молекулата на йонофора *конкурира* молекулите на водата и свързва йона чрез кислородните атоми в централната си кухина. Полученият комплекс е разтворим в хидрофобната част на мембраната поради своята външна въгле-

водородна периферия. Следователно каталитичното действие на този вид йонофори се състои в привеждане на йоните в разтворима в липидите форма.

Молекулата на валиномицина се състои от три еднакви сегмента, всеки от тях съставен от четири остатъка. Те са на L-млечна киселина (лактат), L-валин, D-хидроксиизовалерианова киселина и D-валин, свързани с редуващи се естерни и пептидни връзки (фиг. 9.9). Валиномицинът образува комплекс с K^+ , при което променя конформацията си. Един йон K^+ се свързва с шестте атома на кислорода от карбонилните групи на валиновите остатъци. Метилловите групи на лактата и изопропиловите странични вериги на валина образуват външната хидрофобна част на молекулата на валиномицина.

Валиномицинът свързва K^+ 1000 пъти по-здраво, отколкото Na^+ . Причината за тази висока избирателност е по-доброто стерично съответствие между K^+ и кухнята на валиномицина, определяно от $C=O$ -групите. При образуване на комплекса K^+ на-



Фиг. 9.10. Транспорт на йони с преносители от групата на ениатина

пълно се дехидратира - карбонилните диполи заменят хидратната му обвивка. Йонният радиус на Na^+ е по-малък от този на K^+ и затова Na^+ не може да взаимодейства с кислорода на $C=O$ -групите в кухнята на валиномицина. Енергията на свързване на Na^+ с хидратната обвивка е по-голяма от енергията му на свързване с молекулата на валиномицина. Ако неговата молекула бе достатъчно гъвкава, за да могат размерите на кухнята ѝ да съответстват на размерите на Na^+ , валиномицинът не би имал добра селективност. Скоростта, с която той пренася K^+ през БЛМ,

е около 10^4 йони в секунда.

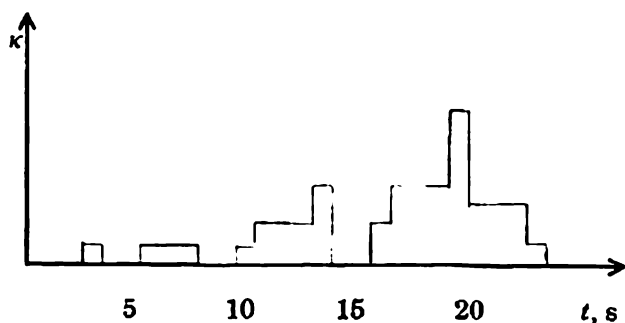
Депсипептидните антибиотици от ениатиновата група действат аналогично на валиномицина, но по отношение на ко-

мплексообразуването имат по-малка ефективност. Това се дължи на по-отворената структура на молекулата на йонофора и по-голямата достъпност на водата до нея. Този недостатък в голяма степен се компенсира от това, че йоните на алкалните метали могат да се пренасят през мембраната във вид на *сандвичи* или *стълбчета*, в които съотношението между броя на молекулите на преносителя и йоните е 2:1 или 3:2 (фиг. 9.10).

• Йонофори каналообразуватели - грамицидин А

Молекулната организация на трансмембранните канали е изследвана в БЛМ при антибиотици каналообразуватели. Най-известни от тях са грамицидин А, амфотерицин В, аламетицин. Техните молекули имат афинитет и към водната, и към органичната фаза, което им дава възможност да образуват воден канал, тъй като лесно пронизват мембраната. *Външната част на канала е хидрофобна* (метилови групи и изопропилови вериги), а *към вътрешността му са обърнати незаредени, добре поляризуеми групи* ($>NH$, $>C=O$). Единият край на молекулата му може да завършва със заредени или силно полярни групи, които служат за "котва", задържаща този край от едната страна на мембраната, докато молекулата пронизва хидрофобната ѝ част.

В БЛМ, съдържаща малко количество грамицидин А, йонните канали се установяват експериментално чрез *измерване на йонната проводимост* κ за Na^+ в зависимост от времето t (фиг.9.11).



Фиг. 9.11. Зависимост на йонната проводимост от времето за БЛМ, съдържаща грамицидин А

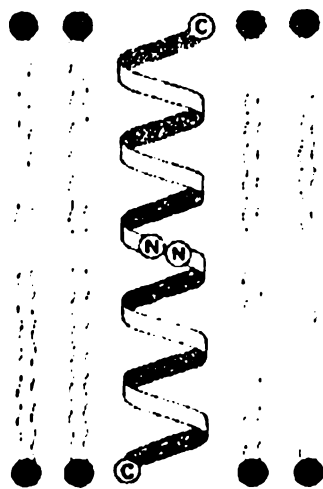
Получава се на пръв поглед странна стъпаловидна крива, която се обяснява лесно, ако се имат предвид следните съображения. Всички канали се отварят и затварят спонтанно, така че броят на

отворените и затворените канали се менят във времето. Всеки канал пропуска само едновалентни катиони, но не може да пропуска

едновременно повече от един. Времето, през което е отворен един канал, е различно, но е от порядъка на няколко секунди. Следователно стъпалото с минимална височина в графиката съответства на отварянето на един канал. Неговата ширина се определя от времето, през което този канал е отворен и е пропорционална на броя на преминалите през него йони. Двойно, тройно и неколкостранно по-високите стъпала съответстват на едновременно отваряне на два, три или повече канала, позволяващи едновременно преминаване на два, три или повече йони.

За 1 s през един канал могат да преминат повече от 10^7 йона. Тази *скорост на транспорт* е само с един порядък по-малка от скоростта на дифузия в чиста вода и е поне 10^3 пъти по-голяма, отколкото с подвижни преносители. Сързването на йоните с подвижните преносители и преместването им в мембраната изисква не по-малко от 1 ms.

Йонофорът *грамицидин А* е полипептид с отворена верига, съставена от 15 аминокиселинни остатъка с хидрофобни R-групи (с изкл. на глицина) така подредени, че се редуват D- и L-форми. Към N-края на молекулата му е свързана алдехидна група, а към C-края ѝ - етаноламин. Молекулата е напълно хидрофобна с изключение на полярните незаредени групи на пептидната верига ($>C=O$ и $>NH$) и крайните полярни групи.



Фиг. 9.12. Схема на канал, образуван от две молекули грамицидин А

Със спектрални методи и рентгенов структурен анализ е доказано, че трансмембраният канал се образува от две молекули грамицидин А. Тогава те са обърнати една към друга със своите N-краища и съставят *спирален димер* с дължина, равна на дебелината на мембраната (фиг. 9.12). Неговата форма прилича на кух цилиндър, в който карбонилните и иминните групи на двете пептидни вериги са свързани с вътрешномолекулни и междумолекулни водородни връзки. Хидрофобните странични вериги се намират на външната страна на цилиндъра и контак-

туват с въглеродородните вериги на мембранните фосфолипиди.

Пропускацията на йони спирален димер е резултат от установяването на равновесно положение на съставлящите го мономерни, всеки от които сам не може да пропуска йони. Всеки единичен канал в мембраната се получава при асоциация на два мономера в димер и се разпада при дисоциация на този димер. Със спонтанното отваряне и затваряне на канали се обяснява и стъпаловидният ход на йонната проводимост във времето. Катионът, попаднал в канала, образува с неговите полярни групи краткотрайни координативни връзки. Молекулите на грамицидина имат динамична природа и преминаването на катион разширява и скъсява канала. Това обяснява и неговата ниска селективност. Диаметърът на канала е около 0,4 nm.

§ 10. АКТИВЕН ТРАНСПОРТ НА НАТРИЙ, КАЛИЙ И КАЛЦИЙ

§ 10.1. Натриево-калиева помпа

• Значение

Животинските клетки се характеризират с голяма асиметрия на йонния състав от двете страни на цитоплазмените мембрани. Йоните с най-висока концентрация са в приблизително следните отношения:

$$\begin{aligned} [K^+]_i &\approx (20 - 40) [K^+]_e \\ [Na^+]_e &\approx (10 - 20) [Na^+]_i \\ [Cl^-]_e &\approx (5 - 10) [Cl^-]_i, \end{aligned} \quad (10.1)$$

където индексите i и e означават съответно вътрешността на клетката и извънклетъчната течност.

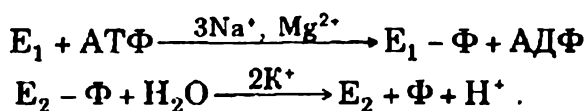
Концентрационните градиенти на йоните Na^+ и K^+ не само поддържат обема и йонния състав на клетката в определени граници, но осигуряват и електричната възбудимост на нервните и мускулните клетки. Освен това те служат и като движеща сила за транспорта на захари и аминокиселини в клетката. Тези градиенти се създават от специфична транспортна система, наречена натриево-калиева помпа (Na^+/K^+ -ева помпа), тъй като двата йона не се

пренасят независимо един от друг.

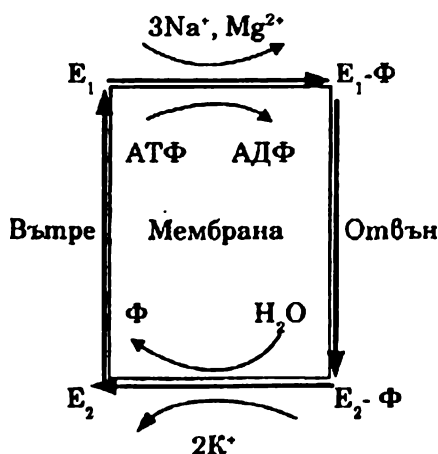
Първоначално се е считало, че съставна част на Na^+/K^+ -евата помпа е ензимът Na^+/K^+ -ева АТФ-аза, който хидролизира АТФ само при добавяне на Na^+ и K^+ в среда, съдържаща Mg^{2+} . За тази цел в състояние на покой се изразходва повече от 1/3 (около 40%) от произвеждания АТФ. По-късно става ясно, че Na^+/K^+ -евата АТФ-аза е не само енергопреобразуващата част на Na^+/K^+ -евата помпа, но е и физически преносител на Na^+ и K^+ , т. е. че помпата няма други компоненти.

• Роля на АТФ

В присъствието на Na^+ и Mg^{2+} АТФ фосфорилира ензима Na^+/K^+ -ева АТФ-аза (начална форма E_1), при което се образува междинният продукт $E_1\text{-}\Phi$. В присъствието на K^+ този продукт се хидролизира. За фосфорилирането не е необходим K^+ , а за дефосфорилирането не е необходим нито Na^+ , нито Mg^{2+} :



В транспорта на Na^+ и K^+ и спрегнатата с него хидролиза на АТФ участват четири конформационни форми на ензима – две



Фиг. 10.1. Циклично изменение на конформацията на ензима

крайни (E_1 и E_2) и две междинни ($E_1\text{-}\Phi$ и $E_2\text{-}\Phi$). Свързването на фосфата Φ променя конформацията $E_1\text{-}\Phi$ в $E_2\text{-}\Phi$, а отделянето му променя E_2 в E_1 . Схема на цикличното изменение на конформацията е представена на фиг.10.1. Максималният брой цикли е около 100 в секунда.

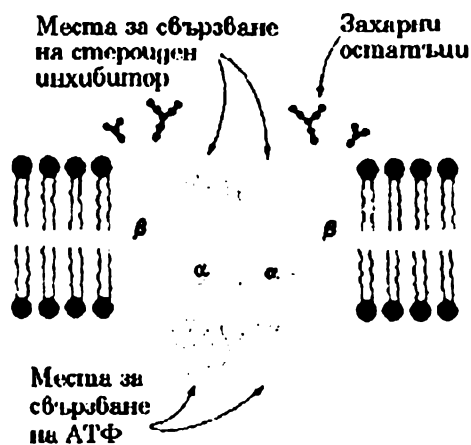
Системата е така спрегнатата, че ако няма транспорт на Na^+ и K^+ , няма разход на енергия на АТФ, тъй като тогава няма хидролиза на АТФ. Спряването е обща особеност на биологичните

системи, в които енергията на АТФ се преобразува в различни видове работа. При хидролизата на една молекула АТФ през клетъчната мембрана се пренасят 3 Na^+ и 2 K^+ в противоположни посоки. Следователно помпата създава разлика в електричния потенциал от двете страни на мембраната, т. е. *помпата е електрогенна*.

• Молекулен строеж

Na^+/K^+ -евата АТФ-аза е олигомерен трансмембранен белтък – тетрамер $\alpha_2\beta_2$, съставен от две полипептидни вериги (фиг. 10.2). Каталитичната субединица α се състои от най-малко седем трансмембранни α -спирали, а β е гликопротеин с по-малка молекулна маса и вероятно съдържа четири трансмембранни спирали. По-голямата част от субединицата α е локализирана от цитозолната страна на мембраната, включително и каталитично активният център, който осъществява хидролизата на АТФ.

От външната страна на мембраната се намира участък, свързващ кардиотонични стероидни инхибитори. Субединицата β



Фиг. 10.2. Схема на молекулярния строеж на Na^+/K^+ -евата помпа

не участва в АТФ-азната и транспортната дейност и голяма част от нея, заедно с трите N-свързани олигозахаридни вериги, е от външната страна на мембраната. Между двете α -субединици или между субединиците α и β (но не и между две β субединици) лесно се образуват напречни мостчета. Затова може да се предположи, че субединиците α са в контакт помежду си, а β са отделени пространствено.

• Модел на действие

Строежът на Na^+/K^+ -евата АТФ-аза все още не е достатъчно изучен, за да може точно да се опише нейният механизъм на действие. Според модела на Ярдецки (O. Jardetzky, 1966) тя трябва да има структура, която да отговаря на следните три условия:

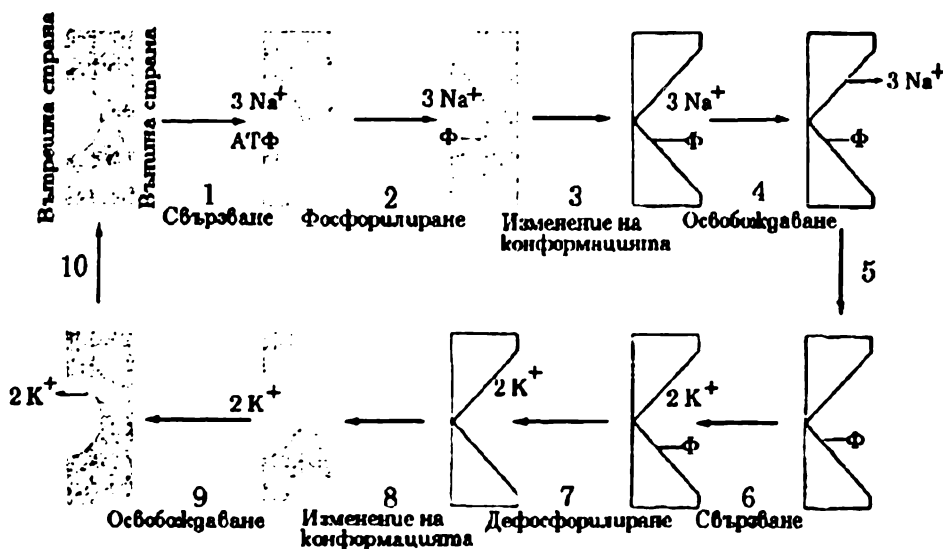
- да има кухина с големина, способна да приема неголеми мо-

лекули или йони;

- да има най-малко две конформационни форми, различаващи се по това, че кухнята на едната от тях (E_1) е отворена към вътрешността на клетката, а на другата (E_2) е отворена навън;

- конформационните форми трябва да имат различен афинитет към пренасяните йони: формата E_1 – силен афинитет към Na^+ , а E_2 – силен афинитет към K^+ .

Моделът се основава на известните факти, че присъствието на Na^+ предизвиква фосфорилиране на E_1 и стабилизиране на E_2 , а присъствието на K^+ - дефосфорилиране на E_2 и стабилизиране на E_1 .



Фиг. 10.3. Схема на модела на Ярдеуки за действие на Na^+/K^+ -евата помпа

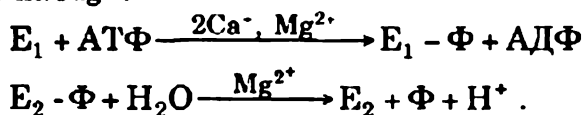
Предполагаемият механизъм на действие на Na^+/K^+ -евата помпа е представен схематично на фиг. 10.3. Горният ред на схемата показва последователните реакции за изнасяне на 3 Na^+ от клетката, а долният (отгясно наляво) – за внасяне на 2 K^+ . С попадането на Na^+ в кухнята от вътрешната страна на мембраната настъпва хидролиза на АТФ и фосфорилиране на E_1 . Фосфорилирането променя конформацията от E_1 -Ф на E_2 -Ф, - кухнята се обръща навън. Формата E_1 -Ф има слаб афинитет към Na^+ , поради което те се освобождават навън. Формата E_2 -Ф има силен афинитет към

K^+ , които се намират от външната страна на мембраната. Със залавянето на K^+ настъпва дефосфорилиране на E_2 -Ф, но формата E_2 без фосфорилната група Ф е нестабилна и се превръща в E_1 . Последната има слаб афинитет към K^+ , поради което те се освобождават навътре и работният цикъл на помпата завършва.

§ 10.2. Калциева помпа

Йоните на калция играят важна роля за мускулното съкращение. В състояние на покой концентрацията на Ca^{2+} в средата около миофибрилите (цитозола) на скелетната мускулна клетка (мускулното влакно) е ниска. Тази концентрация се поддържа от транспортна система, наречена калциева помпа, която *напомпва* Ca^{2+} в ендоплазматичната мрежа (*саркоплазматичния ретикулум*), свързана с мембраната. Възбуждането на мембраната от нервен импулс освобождава от саркоплазматичния ретикулум в цитозола голямо количество Ca^{2+} йони, които чрез тропонина и тропомиозина задействат съкращението на мускулното влакно. При стимулация концентрацията на Ca^{2+} в цитозола нараства около 100 пъти – от 0,1 до 10 $\mu\text{mol/l}$.

Калциевата помпа има *механизъм на действие*, подобен на Na^+/K^+ -евата. И тя преходно се фосфорилира от АТФ, но в присъствието на Ca^{2+} и Mg^{2+} , а полученият междинен продукт се хидролизира в присъствието на Mg^{2+} :

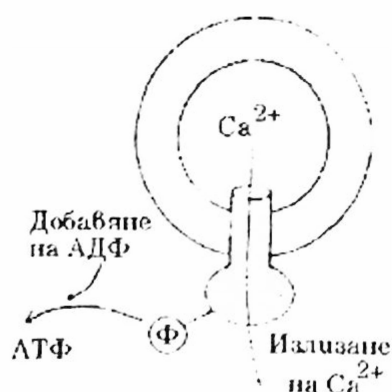


Калциевата АТФ-аза съставя повече от 80% от количеството на всички интегрални белтъци в саркоплазматичния ретикулум и заема около 1/3 от неговата повърхност. Плътността ѝ там е около 20 000/ μm^2 и е една от най-големите за мембранни белтъци. Изследванията показват, че последователността на аминокиселините в Ca^{2+} -евата помпа е подобна на тази в субединицата α на Na^+/K^+ -евата помпа. Освен това трансмембранните спирали на двете помпи са от един вид, а голяма част от полипептидната им верига е локализирана от цитозолната страна на мембраната.

Цикълът на действие на Ca^{2+} -евата помпа има следните прилики с този на Na^+/K^+ -евата помпа:

- Ca^{2+} -евата АТФ-аза има две главни конформационни форми – E_1 и E_2 ;
- фосфорилирането спомага за получаването на формата E_1 , а дефосфорилирането – на E_2 ;
- преходът от E_1 в E_2 обръща мястото за свързване на Ca^{2+} и намалява афинитета му повече от 1000 пъти;
- междинният продукт и при двете помпи е едно и също химично съединение – аспартилфосфат;
- Ca^{2+} -евият транспорт и АТФ-азната активност се инхибират от ванадат, тъй като той стабилизира формата E_2 ;
- преходът на формата E_2 в E_1 се стимулира от АТФ.

Калциевата помпа е *обратима молекулярна машина*. Това означава, че цикълът ѝ на действие може да протича и в обратна посока.



Фиг. 10.4. Схема на калциева помпа, действаща в обратна посока (синтез на АТФ)

В права посока тя превръща енергията от хидролизата на АТФ в градиент на Ca^{2+} , а в обратна посока, за сметка на този градиент, тя синтезира АТФ от АДФ и Ф в присъствието на Mg^{2+} . Това е доказано чрез експерименти *in vitro* върху липозоми. За получаването им са използвани фосфолипиди от соя, в които е добавена Ca^{2+} -ева АТФ-аза, изолирана от саркоплазматичен ретикулум. Ако липозомите се поставят в среда, съдържаща АТФ и Mg^{2+} , те

бързо натрупват във вътрешността си Ca^{2+} , а АТФ се хидролизира. После напълнените с Ca^{2+} липозоми се преместват в друга среда, съдържаща Mg^{2+} , Ф, АДФ и хелатор на Ca^{2+} (фиг. 10.4). Това предизвиква пасивно излизане на Ca^{2+} от липозомите и синтез на АТФ в средата около тях. Една молекула АТФ се образува при преминаването на 2 Ca^{2+} .

§ 10.3. Единство на активния и пасивния транспорт

Активният транспорт почти никога не се извършва самостоятелно, а се придружава от пасивен. От една страна пасивният транспорт е по посока на градиентите, а те са резултат от активен транспорт. От друга страна активният транспорт е противоградиентен процес, който може да се разглежда като спрегнат с друг градиентен процес от по-висок порядък, а именно с хидролизата на АТФ. Тук понятието градиентен процес се използва в по-широк смисъл и означава екзергонен процес (протичащ с намаляване на свободната енергия $G : \Delta G < 0$).

Сумарният процес във всяка система в крайна сметка е градиентен и води до намаляване на свободната енергия и увеличаване на ентропията S ($\Delta S > 0$). Намалението на G в отворена система се компенсира с нови постъпления от околната среда. Окислението на хранителните вещества, последвано от хидролизата на АТФ и освобождаването на свободна енергия, са онези градиентни процеси, които обуславят възможността за протичане на противоградиентни процеси. Един от тях е активният транспорт на вещества.

Потокът вещество J през мембраната на клетката е резултат от електрохимичния градиент $\frac{d\mu^*}{dx}$ и от градиента на енергията на метаболитните процеси $\frac{d\mu_m}{dx}$, освобождавана при хидролизата на АТФ. Според (3.2)

$$J = L \frac{d\mu^*}{dx} + L_m \frac{d\mu_m}{dx}.$$

От този израз следва, че транспортът е:

- пасивен, ако $\frac{d\mu^*}{dx} \neq 0, \frac{d\mu_m}{dx} = 0;$

- първично активен, ако $\frac{d\mu^*}{dx} = 0, \frac{d\mu_m}{dx} \neq 0;$

- комбиниран, ако $\frac{d\mu^*}{dx} \neq 0, \frac{d\mu_m}{dx} \neq 0.$

§ 11. ЕЛЕКТРИЧНИ ПОТЕНЦИАЛИ В МОДЕЛНИ СИСТЕМИ

Най-важното физично явление в клетките и живите организми е възникването и разпространението в тях на електрични потенциали, наречени *биопотенциали*. Без биопотенциалите не са възможни жизненоважни процеси като възбудимост на клетките, работа на нервната система, мускулно съкращение, вътреклетъчна регулация. Способността за движение, която е главна характеристика на живите системи, се основава на електричната им активност. Нарушения, свързани с биопотенциалите в отделни клетки и части от тъкани и органи, водят до сериозни заболявания, каквито например са сърдечните.

Потенциалът характеризира всяка точка на електричното поле по отношение на работата, която полето може да извърши. Работата за пренасяне на заряди между две точки на полето се изразява чрез величината електрично напрежение. Ето защо (от физична гледна точка) е по-правилно вместо биопотенциал да се използва терминът *бионапрежение*. Общоприет обаче е терминът биопотенциал, наложил се исторически.

Съвременната теория за възникване на биопотенциалите, наречена електродифузионна, се основава на транспорта на йони през полупроницаема мембрана, водещ до неравномерно разпределение на йоните от двете страни на мембраната. С други думи биопотенциалите се разглеждат като *мембранны потенциал*, *резултат от дифузия и електродифузия*.

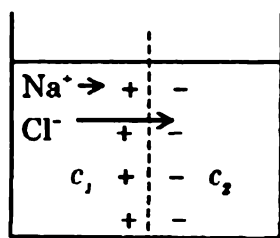
Механизмите на възникване на биопотенциалите могат да бъдат изяснени с помощта на по-прости моделни системи и опростяващи допускания. С тази цел тук ще бъдат разглеждани условията и механизмите на възникване на дифузионен, равновесен и донанов потенциал, както и зависимостите им от концентрациите на йоните.

§ 11.1. Дифузионен потенциал

Дифузионен потенциал възниква в моделна система, която отговаря на следните условия:

- съдържа електролити, разделени с обикновена (пореста) мембрана;
- концентрациите на йоните от двете страни на мембраната в началното състояние на системата са различни ($c_1 \neq c_2$);
- йоните с различен знак имат различна подвижност ($u^+ \neq u^-$).

Прост пример за такава система е съд с воден разтвор на NaCl с различна концентрация от двете страни на пореста мембрана (фиг. 11.1). Нека концентрацията на йоните в лявата част е

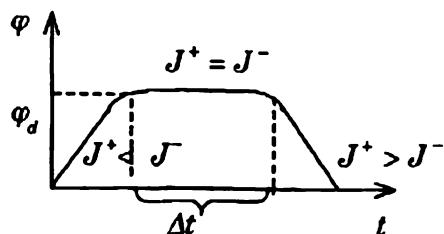


Фиг. 11.1. Възникване на дифузионен потенциал

c_1 , в дясната - c_2 и $c_1 > c_2$. Ако подвижността на Na^+ е u^+ , а на Cl^- - u^- , то $u^- > u^+$ около 1,5 пъти. Под действие на концентрационния градиент започва дифузия, но поради по-голямата си подвижност анионите изпреварват катионите. Първоначално в дясната част на разтвора преминават повече аниони, отколкото

катиони и в двете му части се създава пространствен заряд с различен знак, а между тях – електричен градиент. Този градиент започва да ускорява катионите и да забавя анионите. Когато техните потоци се изравнят и останат постоянни във времето, настъпва *стационарно състояние*. Стойността на потенциалната разлика от двете страни на мембраната при това състояние се нарича *дифузионен потенциал*.

Тази стойност на потенциала се запазва постоянна непро-



Фиг. 11.2. Зависимост на дифузионния потенциал от времето

дължително време – толкова, колкото е продължителността на стационарното състояние Δt (фиг. 11.2). След това, въпреки по-ниската подвижност на катионите, техният поток нараства и превишава по големина потока на анионите, чийто концентрационен градиент е

станал по-нисък. Потенциалът започва да намалява и става нула при изравняване на концентрациите от двете страни на мембраната.

Описаните дотук процеси са възможни и без наличието на пореста мембрана, тъй като тя не влияе различно на поведението на двата вида йони. Тя е включена като съставна част на системата само от съображения за нагледност, но може да бъде заместена с разделителната граница между двата разтвора.

Големината на дифузионния потенциал може да се намери от електродифузионното уравнение на Нернст – Планк (8.11) за двата вида йони. За опростяване на решението се приема, че двете части на разтвора и самата мембрана са електронеутрални. Това допускане, наречено *условие за електронеутралност*, означава, че навсякъде концентрацията на катионите е равна на концентрацията на анионите ($c^+ = c^- = c$). Нека освен това се разглежда бинарен симетричен електролит ($z^+ = -z^- = z$).

В стационарно състояние електричен ток през мембраната не тече, т. е. сумарният ток е нула, тъй като потокът на анионите J^- е равен на потока на катионите J^+ ($J^- = J^+$):

$$-u^- RT \frac{dc}{dx} + u^- czF \frac{d\varphi}{dx} = -u^+ RT \frac{dc}{dx} - u^+ czF \frac{d\varphi}{dx} .$$

Оттук дифузионният потенциал φ_d се намира след разделяне на променливите

$$(u^+ + u^-) czF \frac{d\varphi}{dx} = -(u^+ - u^-) RT \frac{dc}{dx} ,$$

$$\frac{d\varphi}{dx} = - \frac{u^+ - u^-}{u^+ + u^-} \frac{RT}{zF} \frac{1}{c} \frac{dc}{dx}$$

и интегриране в граници $0 \leq \varphi \leq \varphi_d$ и $c_1 \leq c \leq c_2$:

$$\boxed{\varphi_d = - \frac{u^+ - u^-}{u^+ + u^-} \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_2}{c_1}} . \quad (11.1)$$

Полученият израз за дифузионния потенциал носи името *уравнение на Хендерсън* (P. Henderson). Както се вижда, той се

анулира или при изравняване на подвижностите, или при изравняване на концентрациите. Уравнението е валидно за мембрани с макроскопична дебелина (от порядъка на μm), но не и за тънки липидни и клетъчни мембрани, където условието за електронеутралност в мембраната не е изпълнено. Това се дължи главно на различната концентрация на катионите и анионите вследствие на тяхната различна липофилност.

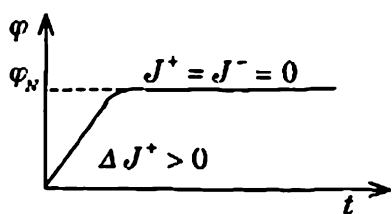
Дифузионният потенциал е основната компонента на потенциала на покой на клетките. Освен това така нареченият демаркационен потенциал, който възниква при механични увреждания на клетъчни мембрани, също има дифузионен характер.

§ 11.2. Равновесен потенциал

Моделната система, в която възниква равновесен потенциал, отговаря на следните условия:

- съдържа електролити, разделени с *неидеална полупроницаема мембрана*;
- в началното състояние на системата концентрациите на йоните от двете страни на мембраната са различни;
- в крайното състояние концентрациите на йоните от двете страни на мембраната са постоянни и различни, но поне за един вид йони концентрацията е различна от началната.

Пример за такава система е разтвор на KCl с концентрации от порядъка на 0,1 и 0,01 mol/l от двете страни на полупроницаема мембрана, пропускаща само катиони. В порите на такава мембрана, наречена *катионообменна*, се намират фиксирани голям брой отрицателни заряди, които не позволяват през тях да преминават аниони.



Фиг. 11.3. Зависимост на равновесния потенциал от времето

Първоначално под действие на концентрационния градиент през мембраната започват да преминават катиони и техният поток нараства (фиг. 11.3). Възникналият в резултат на това електричен градиент започва да

забавя тяхната скорост. Когато електричният градиент уравновесява концентрационния, потокът на катионите през мембраната става нула. Настъпва *термодинамично равновесие*, тъй като няма потоци и параметрите на системата придобиват постоянни стойности във времето и пространството. От двете страни на мембраната се установява потенциална разлика, наречена *равновесен или Нернстов потенциал* φ_N .

Големината на равновесния потенциал се намира аналогично на дифузионния като потокът на йоните, които мембраната е пропускала (например потокът на катионите при бинарен електролит), се приравни на нула:

$$-u^+ \left(RT \frac{dc}{dx} + zF \frac{d\varphi}{dx} \right) = 0.$$

Тъй като подвижността $u^+ \neq 0$, от израза в скобите следва, че

$$\frac{d\varphi}{dx} = - \frac{RT}{zF} \frac{1}{c} \frac{dc}{dx}.$$

След интегриране в граници $0 \leq \varphi \leq \varphi_N$ и $c_1 \leq c \leq c_2$, се получава *уравнението на Нернст* за равновесния потенциал:

$$\boxed{\varphi_N = - \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_2}{c_1}}. \quad (11.2)$$

Това уравнение може да се получи и от уравнението на Хендърсън (11.1) при $u^- = 0$. То описва добре разпределението на K^+ между цитоплазмата и средата при животински клетки, но не отразява правилно разпределението на Na^+ .

Антилогаритмуването на уравнението на Нернст води до израза:

$$c_2 = c_1 e^{-\frac{zF}{RT} \varphi}.$$

Това е известният статистически *закон на Болцман* за разпределение на частици по енергии в някакво силово поле при термодинамично равновесие. В случая той свързва концентрацията на йоните c_2 в точка с електричен потенциал φ с концентрацията на същия вид йони c_1 в такава част на разтвора, в която потенциалът

е приет за нула. За клетка това са концентрациите вътре в нея c_i и извън нея c_e :

$$c_i = c_e e^{-\frac{zF}{RT}\varphi} . \quad (11.3)$$

Ако означим експонента с ψ :

$$\psi = \frac{zF}{RT}\varphi , \quad (11.4)$$

законът на Болцман придобива съвсем прост вид:

$$c_i = c_e e^{-\psi} . \quad (11.5)$$

Величината ψ е безразмерна и се нарича *безразмерен потенциал*.

§ 11.3. Донанов потенциал

Потенциалът, носещ името на английския физикохимик Донан (F. Donnan), възниква подобно на равновесния потенциал. И в този случай *необходими условия* са наличието на полупроницаема мембрана и разлика в концентрациите на малки (прости) йони от двете страни на мембраната. Освен това в разтвора трябва да има и *заредени макромолекули или колоидни частици*, за които мембраната е непроницаема. За клетъчните мембрани това са белтъци, нуклеинови киселини и други големи органични йони. Малките неорганични йони могат лесно да преминават през нея.

Зависимостта на донановия потенциал от концентрациите се извежда също въз основа на *условието за електронеутралност* - от двете страни на мембраната електричният заряд на всички катиони е равен на заряда на всички аниони. При клетъчна мембрана се използват означенията $[K^+]$ и $[Cl^-]$ за концентрациите на всички неорганични йони от двата знака и $n[Pr^-]$ за концентрациите на големите полийони. Последните са предимно дисоциирани белтъчни молекули, а n е броят на отрицателните им заряди. Електричните заряди в клетката и междуклетъчната течност, изразени чрез концентрациите, са:

$$[K^+]_i = [Cl^-]_i + n[Pr^-]_i, \quad (11.6)$$

$$[K^+]_e = [Cl^-]_e + n[Pr^-]_e. \quad (11.7)$$

Условието за настъпване на донаново равновесие се намира лесно от статистическия закон на Болцман (11.5), свързващ концентрациите на неорганичните йони:

$$\begin{aligned} [K^+]_i &= [K^+]_e e^{-\psi}, \\ [Cl^-]_i &= [Cl^-]_e e^{\psi}. \end{aligned} \quad (11.8)$$

Степенният показател на второто уравнение е положителен съгласно възприетото означение z да включва и знака на заряда. Чрез почленно умножаване на двете уравнения се получава *условието за донаново равновесие*:

$$\boxed{[K^+]_i [Cl^-]_i - [K^+]_e [Cl^-]_e}. \quad (11.9)$$

Известно е, че концентрациите на катионите от двете страни на мембраната се поддържат различни поради действието на Na^+/K^+ -евата помпа. Тези концентрации от своя страна определят и концентрациите на неорганичните аниони (Cl^-) в съответствие с равенството (11.9).

В междуклетъчната течност концентрацията на неорганичните йони от всеки знак е около 150 mmol/l. Тя е значително по-голяма от $n[Pr^-]_e$, въпреки че броят на зарядите на една белтъчна молекула е $n \sim 10 - 20$. Тогава от (11.7) следва приблизителното равенство

$$[K^+]_e = [Cl^-]_e = c_e.$$

Като се има предвид означението c_e за концентрациите на неорганичните йони и (11.8), равенството (11.6) придобива вида:

$$c_e e^{-\psi} = c_e e^{\psi} + n[Pr^-]_i$$

или

$$e^{\psi} - e^{-\psi} = -\frac{n[Pr^-]_i}{c_e}.$$

Известно е, че при малки стойности на експонента ψ

$$e^{\psi} \approx 1 + \psi$$

$$u \quad e^{\psi} - e^{-\psi} \approx 2\psi . \quad (11.10)$$

Тогава за безразмерния потенциал се получава

$$\psi = -\frac{n[\text{Pr}^-]_i}{2c_e} .$$

Донановият потенциал φ_D се намира след заместването на ψ от (11.4) при $z = 1$:

$$\boxed{\varphi_D = -\frac{RT}{F} \frac{n[\text{Pr}^-]_i}{2c_e}} . \quad (11.11)$$

Големината на донановия потенциал е правопрпорционална на концентрацията на белтъци в клетката и обратнопропорционална на концентрацията на неорганични йони в междуклетъчната течност. Пресметнатият по този израз $\varphi_D \approx -1,4 \text{ mV}$. Като се имат предвид значително по-големите стойности на потенциала на покой в живите клетки е ясно, че донановият потенциал е една много малка част от него.

§ 12. ПОТЕНЦИАЛ НА ПОКОЙ

§ 12.1. "Калисва" теория за потенциала на покой

Между цитоплазмата на нормално функционираща (жива) клетка в състояние на покой и околната среда винаги има потенциална разлика, наречена *потенциал на покой*. Този потенциал е отрицателен спрямо потенциала на извънклетъчната течност (приет за нула) и най-често има стойност около $-60 \div -90 \text{ mV}$. Причини за възникването му са разликите в концентрациите на йоните Na^+ , K^+ и Cl^- от двете страни на клетъчната мембрана (10.1) и различната проницаемост на мембраната за тези йони.

Още през 1902 г. Бернщайн (J. Bernstein) предполага, че големината на потенциала на покой φ се определя от концентрациите на калиевите йони според уравнението на Нернст за равновесния потенциал (11.2):

$$\varphi = - \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_i}{[K^+]_e} . \quad (12.1)$$

Равновесните “калиеви” потенциали, пресметнати по това уравнение, са близки до измерените потенциали на покой, но все пак те се различават помежду си, особено при ниски концентрации на K^+ . Това показва, че “калиевата” теория за потенциала на покой не е свършена и не обяснява напълно наблюдаваните факти. Причината е, че освен K^+ в образуването му участват и други йони.

§ 12.2. Теория на Ходжкин-Кац за стационарния потенциал

Ходжкин (А. Hodgkin) и Кац (В. Katz) приемат, че когато мембраната е проницаема за няколко вида йони, потенциалът на покой не е равновесен, а е стационарен. Тогава през мембраната непрекъснато преминават насрещни потоци от K^+ , Na^+ и Cl^- , но в стационарно състояние сумарният поток J е нула:

$$J = J_K + J_{Na} + J_{Cl} = 0 .$$

Ако приемем, за простота в началото на извеждането, че $J_{Cl} = 0$,

$$J_K = - J_{Na} . \quad (12.2)$$

При стационарно състояние плътностите на потоците J_K и J_{Na} са постоянни във времето. Те могат да се определят от уравнението на Нернст-Планк въз основа на хипотезата на Голдман (D. Goldman), че електричното поле в мембраната е постоянно, т. е. и градиентът на потенциала е постоянен. Тогава потенциалът φ се изменя линейно с разстоянието x :

$$\frac{d\varphi}{dx} = \frac{\varphi}{l} .$$

Това се отнася и за безразмерния потенциал ψ (8.14) в уравнението (8.15), което придобива вида:

$$J = -D \left(\frac{dc}{dx} + c \frac{\psi}{l} \right) .$$

Решението му за J се получава след разделяне на променливите x и c и интегриране в граници $0 \leq x \leq l$ и $c_{mi} \leq c \leq c_{me}$. Тъй като $c_{mi} = kc_i$, $c_{me} = kc_e$, а $P = \frac{kD}{l}$ е коефициентът на пропусаемост на мембраната (вж § 9.1), крайният резултат е:

$$J = P\psi \frac{c_i - c_e e^{-\psi}}{e^{-\psi} - 1}. \quad (12.3)$$

Този израз свързва плътността на потока J с три величини: с пропусаемостта на мембраната P , мембранный потенциал φ (чрез ψ) и концентрацията на йоните от двете страни на мембраната c_i и c_e . От него могат да се направят следните изводи:

- ако $P = 0$ (мембраната е непроницаема), $J = 0$ (няма поток);
- ако $c_i = c_e = c$, но $\psi \neq 0$ (има електрично поле), $J = P\psi c$ (потокът е само електродифузионен);

- ако $\psi = 0$, т. е. или $z = 0$ (неутрални частици) или $\varphi = 0$ (няма електрично поле), или едновременно $z = \varphi = 0$, след граничен преход (споредна на Лопитал) се достига до известното уравнение за дифузия през пореста мембрана: $J = P(c_i - c_e) = P\Delta c$.

Изразяването на потоците J_K и J_{Na} според (12.3) и заместването им в (12.2) води до равенството

$$P_K \psi \frac{[K^+]_i - [K^+]_e e^{-\psi}}{e^{-\psi} - 1} = -P_{Na} \psi \frac{[Na^+]_i - [Na^+]_e e^{-\psi}}{e^{-\psi} - 1}.$$

След съкращаване на $\frac{\psi}{e^{-\psi} - 1}$, разкриване на скобите и прегрупиране за $e^{-\psi}$ се получава

$$e^{-\psi} = \frac{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i}{P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e}.$$

Безразмерният потенциал ψ се определя чрез логаритмуване, а от него (при $z = 1$) - и потенциалът φ на мембраната в покой:

$$\varphi = -\frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i}{P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e} \quad (12.4)$$

Ако се има предвид, че в създаването на потенциала участват и хлорните йони (Cl^-) и това, че зарядът им е с противоположен знак, за φ окончателно се получава:

$$\varphi = -\frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_e}{P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e + P_{Cl} [Cl^-]_i} \quad (12.5)$$

Това уравнение, изведено през 1949 г., се нарича *уравнение на Голдман Ходжкин-Кац* или накратко - уравнение на Голдман. То е *по-общо от уравнението на Нернст* (12.1), тъй като освен K^+ включва и други йони, както и съответните коефициенти на пропусаемост на мембраната. В случай, че $P_K \gg P_{Na}$ и $P_K \gg P_{Cl}$ двете уравнения стават идентични. Най-съществената разлика между тях обаче е *различният подход* при извеждането им. Единият приема за естествено състояние на живата клетка термодинамичното равновесие, а другият - стационарното състояние. Потенциалът на покой според уравнението на Голдман има характер на *дифузионен потенциал*, тъй като е резултат от дифузията на K^+ , Na^+ и Cl^- . В случай, че *няма пасивно движение на Cl^-* потенциалът на покой на една клетка в стационарно състояние се свежда до израза (12.4).

§ 12.3. Компоненти на потенциала на покой

Уравнението (12.4) дава стойността на потенциала на покой, обусловена от наличните разлики в концентрациите и на K^+ , и на Na^+ вътре и извън клетката. Тези разлики са резултат от действието на Na^+/K^+ -евата помпа в мембраната. От друга страна при всеки цикъл на работа на помпата от клетката се изнасят повече положителни йони (3 Na^+), отколкото се внасят (2 K^+). Това води до намаляване на положителния заряд в клетката и увеличаване големината на отрицателния потенциал (потенциалът на външната среда се приема за нула). Следователно помпата е *електро-*

генна и потенциалът на покой трябва да има по-голяма стойност от онази, изведена в уравнението.

При стационарно състояние концентрациите на всеки от двата вида йони е постоянна и различна от двете страни на мембраната. Тогава активните потоци J_K^A и J_{Na}^A са равни на съответните им пасивни потоци J_K и J_{Na} , обусловени от проницаемостта на мембраната и протичащи в противоположна посока:

$$J_K^A = -J_K \text{ и } J_{Na}^A = -J_{Na}.$$

Оттук следва и равенство между отношенията на пасивните и активните потоци:

$$\frac{J_{Na}}{J_K} = \frac{J_{Na}^A}{J_K^A} = -\frac{3}{2} = -r.$$

Тук r е коефициент на спрягането, показващ отношението между броя на изнесените от клетката натриеви йони и броя на внесените калиеви. Знакът минус означава, че J_{Na} и J_K са в противоположни посоки. Следователно

$$J_{Na} = -r J_K, \quad (12.6)$$

а първоначално приетото $J_{Na} = -J_K$ (12.2) се отнася за електропептрална Na^+/K^+ -ева помпа ($r = 1$). Като се има предвид електрогенността на помпата, т. е. равенство (12.6), за потенциала на покой се извежда (аналогично на уравнението на Голдман) друг израз, наречен *уравнение на Томас* (R. Thomas):

$$\varphi = -\frac{RT}{F} \ln \frac{r P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i}{r P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e}. \quad (12.7)$$

Онази част от потенциала на покой, която е резултат само от електрогенността на помпата, може да бъде намерена като разлика в потенциалите, изчислени по уравнението на Томас и уравнението (12.4). Като се има предвид, че $r P_K [K^+]_i \gg P_{Na} [Na^+]_i$ и за простота $P_{Na} [Na^+]_i$ се пренебрегне, максималната стойност на тази разлика е

$$\Delta\varphi \approx \frac{RT}{F} \ln \frac{1}{r} \approx 10 \text{ mV}.$$

От изложеното до тук се вижда, че потенциалът на покой се дължи на активния транспорт. Активният транспорт обуславя както пасивните електродифузионни потоци от йони (*компонента на дифузионния потенциал*), така и *компонента, дължаща се на електрогенността на помпата*. Заредените макромолекули (полийо-ни), които не могат да излязат от клетката, създават друга *компонента с характер на равновесен потенциал и по-точно - на донанов*. Приносът на тази компонента към големината на потенциала е твърде малък (около 1 - 2 mV). Големините и на трите компонен-ти на потенциала на покой са тясно свързани със структурата и функциите на клетъчната мембрана.

Големината на потенциала на покой не е еднаква за различ-ните клетки и може да се променя в зависимост от жизнената им дейност. Стойностите му са високи при неувредени нервни клетки, тъй като мембраните им имат изобщо ниска проницаемост, а про-ницаемостите за Na^+ и K^+ се различават значително. *Увреждането на една клетка* обикновено повишава проницаемостта на мембра-ната, намалява разликата между P_{K} и P_{Na} и съответно дифузионна-та компонента на потенциала. Нарушенията в синтеза на макро-ергични съединения води до понижаване на енергетичните запаси на клетката и до намаляване на компонентата на потенциала, свър-зана с работата на Na^+/K^+ -евата помпа. В силно увредени клетки потенциалът на покой може да се понижи драстично и да достигне стойността на донановия потенциал. Тогава в тях настъпва пре-разпределение на йоните, което зависи от съдържанието на полийо-ните, а не от работата на йонната помпа.

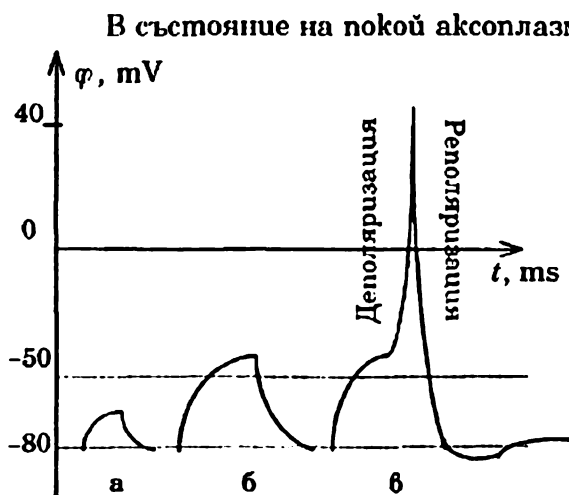
§ 13. АКЦИОНЕН ПОТЕНЦИАЛ

§ 13.1. Същност, възникване

Отдавна е установено, че нервните и мускулните клетки (дори и клетки на водорасли) променят мембранните си потенциали (потенциали на покой) при надпорово дразнене. Изменението им се проявява под формата на положителни електрични импулси с про-

гължителност на всеки от тях около 1 ms. То прилича на затихващо трептене и се нарича *акционен потенциал* или *спайк*. От друга страна нервната активност винаги се съпровожда с електрични явления.

❖ При съвременната експериментална техника акционните потенциали могат да се усилват и регистрират. Голямо значение за биофизичните изследвания имат методът за поставяне на микроелектроди в изолирани аксони и методът перфузия на аксон. За целта се използват най-големите нервни влакна на спията, наречени гигантски аксони, които достигат диаметър 1 mm и дължина до 10 cm. За сравнение: нервните влакна при човек са с диаметър от 0,1 до 10 μ m. Обикновено се поставят два микроелектрода - единият за електрична стимулация на възбуждането, и другият - за измерване на генерирания потенциал. Перфузията е изтласкване на аксоплазмата от аксона и заменянето ѝ с изкуствени разтвори.



Фиг. 13.1 Възникване на акционен потенциал
а) подпорог импулс, б) надпорог импулс,
в) акционен потенциал

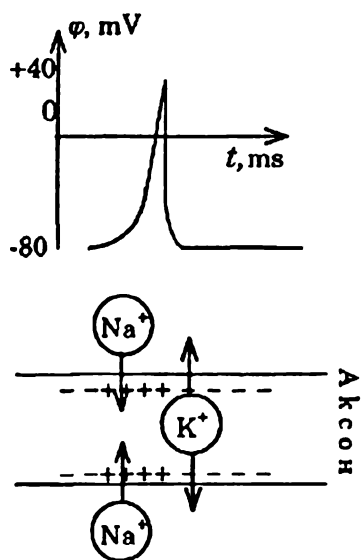
(фиг. 13.1 б), предизвиква акционен потенциал с големина + 40 mV и амплитуда 120 mV (фиг. 13.1 в).

Формата и големината на стимулиращия импулс нямат значение за големината на спайка и зависимостта му от времето. Нервното влакно действа по принципа "всичко или нищо", т. е. акционен потенциал с определена големина или възниква, или не. За възбуждане на аксона е необходимо някакво *минимално количество*

по отношение на външната среда – например около - 80 mV (фиг. 13.1). Опитите показват, че ако електричният стимул не достигне някаква *порогова стойност*, акционен потенциал не възниква (фиг. 13.1 а). Само прилагането на стимулиращ импулс, по-голям от пороговата стойност, например - 50 mV

електричество $Q_{\text{мн}} = I\Delta t$. При намаляване на продължителността на подавания импулс Δt е необходимо увеличаване на големината на тока I . За дълги правоъгълни импулси има една минимална големина на тока, под която не се получава възбуждане, независимо от стойностите на Δt .

При подаване на последователни импулси, разделени от интервал, победенето на аксона зависи от продължителността на този интервал. Веднага след като един участък от него генерира импулс, той не може да бъде възбуден отново - аксонът е в абсолютно рефрактерно състояние. След абсолютното следва относително рефрактерно състояние, когато за възбуждане е необходим прагов импулс с по-голяма стойност. Цялото рефрактерно състояние има продължителност от една до няколко милисекунди.



Фиг. 13.2. Промяна в проникваемостта на мембраната при деполяризация и реполяризация

Какви промени се извършват от двете страни на мембраната при възникването и разпространението на акционния потенциал по дължината на аксона? При покой, в резултат от активния транспорт, съотношенията между концентрациите на основните йони вътре и извън аксона са според известните равенства (10.1). Стимулиращият импулс увеличава проникваемостта на мембраната за натриевите йони, те навлизат през мембраната под действие на концентрационния градиент (фиг. 13.2) и потенциалът от вътрешната ѝ страна променя знака си. Настъпва деполяризация на участък от мембраната. Измерванията

върху мембраната на гигантския аксон на сепията показват, че при преминаване от състояние на покой в състояние на възбуждане отношението на йонните проникваемости се променя

$$\begin{aligned} \text{от } P_K : P_{Na} : P_{Cl} &= 1 : 0,04 : 0,45 \\ \text{на } P_K : P_{Na} : P_{Cl} &= 1 : 20 : 0,45. \end{aligned}$$

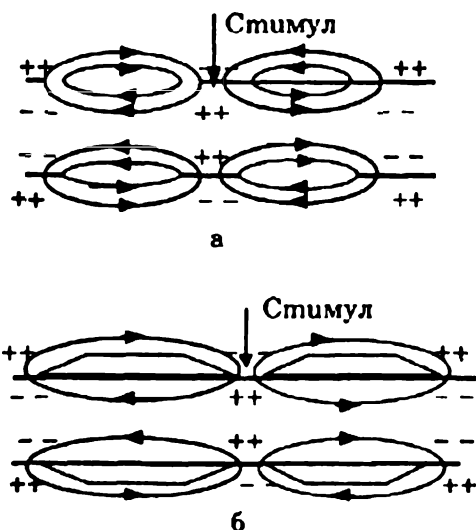
Промяната в проницаемостта на мембраната се обяснява с отварянето на канали, през които само натриевите йони проникват в аксоплазмата, предизвиквайки деполяризация. След това тези канали се затварят и се отварят канали, пропускащи само калиевите йони. През тях йоните излизат пасивно навън (фиг. 13.2) и отрицателният потенциал от вътрешната страна на разглеждания участък от мембраната се възстановява - настъпва *реполяризация*. След преминаване на рефрактерния период мембраната на аксона придобива способност да предава нов импулс.

§ 13.2. Разпространение

Установено е, че електричният сигнал, отговарящ на отделен импулс, се разпространява по дължината на нервното влакно (аксона). Аксоплазмата е разтвор на електролити, но електричното ѝ съпротивление е 10^8 пъти по-голямо от съпротивлението на меден проводник със същия диаметър. Докато в такъв проводник се явяват топлинни загуби и изтичания, аксонът предава импулса на няколко метра разстояние без затихване и изкривяване. Това показва, че *аксоплазмата не е проводник на акционния потенциал*.

Въпреки че стимулиращият импулс е престанал да действа, акционният потенциал се разпространява по дължината на нервното влакно с постоянна скорост, без затихване. Това се дължи на протичането на *локални токове* между възбудените (активните) и не възбудените (в покой) участъци на аксона. Ако се приеме, че външната среда е добър проводник, то външната повърхност на мембраната има еднакъв положителен потенциал. При деполяризацията вътрешната част на мембраната на възбудения участък се зарежда положително, а външната - отрицателно. Поляритетът на съседните не възбудени участъци се определя от потенциала на покой. Между възбудения и съседния не възбуден участък протича локален ток, който се затваря в обратна посока през външната среда (фиг. 13.3 а). Сумарният надлъжен ток през напречното сечение на аксона и околната среда е нула, тъй като вътрешните и външните токове са равни по големина, но противоположни по посока. *Напречният локален ток* през мембраната на съседния участък играе роля на

стимулиращ импулс и предизвиква нейната деполяризация. Акционният потенциал се разпространява само напред, тъй като участъкът, който вече е бил възбуден, се намира в рефрактерно състояние.



Фиг. 13.3. Разпространение на импулса по немиелинизирано (а) и миелинизирано влакно (б)

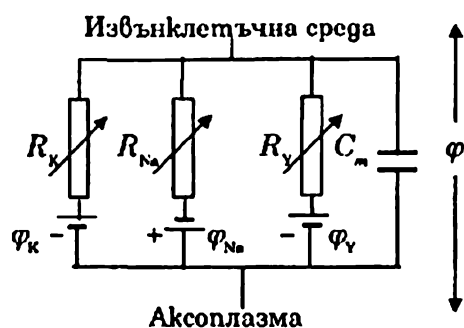
Повечето нервни влакна на гръбначните животни, освен най-тънките, са обвити от многослойна (до 250 слоя) дебела неклетъчна миелинова обвивка. На всеки 1 - 2 mm тя има пръстеновидни прекъсвания с ширина около 1 μ m, наречени прищъпвания на Ранвие. Тази обвивка има голямо електрично съпротивление и изпълнява изолаторна функция. Локалните токове в миелинизираните влакна могат да се затварят само през прищъпванията на Ранвие (фиг. 13.3 б) и възбужда-

нето се предава на скокове (*салтаторно*) от едно прищъпване на друго. Предаването става с по-голяма скорост и с по-малка загуба на енергия, отколкото в немиелинизираните влакна със същия диаметър. Миелинизираните влакна имат малък електричен капацитет и зареждането на мембраната им изисква много по-малко енергия, отколкото това на немиелинизираните.

Скоростта на разпространение на нервния импулс е в интервала от 1 до 100 m/s. В немиелинизиран аксон на котка тя е от 0,7 до 2,3 m/s, а в миелинизиран, също на котка - от 10 до 100 m/s. В миелинизираните аксони скоростта е пропорционална на разстоянието между прищъпванията, което пък е пропорционално на диаметъра на аксона. Скоростта в немиелинизираните аксони също нараства с диаметъра, но по-слабо - приблизително с квадратния корен от диаметъра. Тя е 25 m/s в гигантския аксон на сепията.

§ 13.3. Уравнения на Ходжкин-Хъксли за йонните токове

Измененията на мембранныя потенциал при възбуждане се обясняват чрез йонните проводимости с помощта на еквивалентна електрическа схема на мембраната, предложена от Кац. Тя представя само един елемент от мембраната, свързан последователно към други такива елементи, подобно на елементите на един непрекъснат кабел. В тази схема



Фиг. 13.4. Еквивалентна електрическа схема на елемент от мембраната

(фиг. 13.4) потенциалът на покой φ се създава от източници на напрежение, равни на равновесните потенциали на Na^+ и K^+ - φ_{Na} и φ_K . С φ_Y е означен равновесният потенциал на Cl^- и всички останали йони. Променливите резистори R_{Na} , R_K и R_Y определят проводимостта на мембраната

за съответните йони, а кондензаторът C съответства на капацитивните свойства на мембраната. Сумарният ток през мембраната I се определя от тока на отместване I_C , възникващ при промяна на заряда от двете ѝ страни (капацитивен ток) и от токовете на проводимост, предизвикани от преминаването на йоните:

$$I = I_C + I_{\text{Na}} + I_K + I_Y.$$

Плътността на капацитивния ток I_C се изразява чрез заряда върху мембраната Q и капацитета ѝ на единица площ C :

$$I_C = \frac{dQ}{dt} = C \frac{d\varphi}{dt}.$$

Плътността на всеки ток на проводимост I_i ($i = \text{Na}, \text{K}, \text{Y}$) се определя по закона на Ом от разликата в потенциалите и от съпротивлението на единица площ. За единица дължина това съпротивление може да се замени със специфичното съпротивление ρ_i или специфичната проводимост g_i :

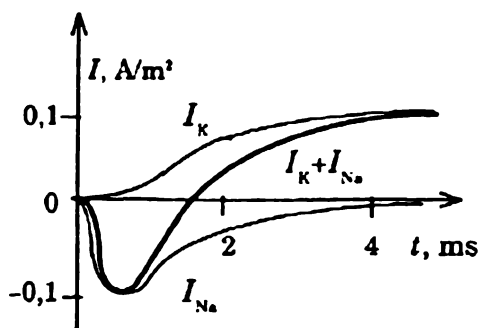
$$I_i = \frac{\varphi - \varphi_i}{\rho_i} = g_i(\varphi - \varphi_i). \quad (13.1)$$

Тогава изразът за плътността на сумарния ток придобива вида:

$$I = C \frac{d\varphi}{dt} + g_{Na}(\varphi - \varphi_{Na}) + g_K(\varphi - \varphi_K) + g_Y(\varphi - \varphi_Y) \quad (13.2)$$

Ходжкин и Хъксли успяват да измерят поотделно големините на натриевия и калиевия ток през мембраната в гигантския аксон на сепията и да получат техните зависимости от времето. На практика това е трудно осъществимо като се има предвид, че при възбуждане съпротивлението на мембраната се променя бързо с времето и мембранныят потенциал се оказва променлива величина.

❖ За да измерят йонните токове Ходжкин и Хъксли използват електронна схема, с която потенциалът автоматично се поддържа постоянен, независимо от промяната на йонните токове (*метод на фиксация на потенциала* или voltage clamp, англ.). Най-напред те измерват общия ток на Na^+ и K^+ като изключват чрез компенсиране другите компоненти (I_C и I_Y). Токът I_Y , наричан още ток на утечка (изтичане), е малък по големина и не зависи от потенциала и времето. След това заменят Na^+ във външната среда с катиони, които не могат да преминават през мембраната вътре в клетката (например холин) и измерват само калиевия ток. Натриевият ток намират като разлика между общия ток и калиевия ток.



Фиг.13.5. Зависимости на йонните токове от времето: калиев, натриев и сумарен ток през мембраната

Получените зависимости на плътностите на йонните токове I , I_{Na} и I_K от времето при деполяризирана мембрана (постоянно надпорогово напрежение) имат вида, показан на фиг. 13.5. Приема се, че изходящите от клетката токове са положителни, а входящите – отрицателни. Натриевият ток е входящ, а калиевият – изходящ.

Тъй като по време на опитите потенциалът на мембраната се поддържа постоянен, и трите криви представят изменението на проводимостта на мембраната с времето. В състояние на покой мембраната е проводима главно за K^+ и затова потенциалът на покой е приблизително равен на равновесния калиев потенциал. По време на деполяризацията проводимостта на мембраната за Na^+ нараства

бързо и след като достигне максимума си, намалява по-бавно. При това мембранният потенциал се променя от нивото на покой до нивото на равновесния натриев потенциал. Проводимостта на мембраната за K^+ нараства по-бавно и не намалява, при което йоните излизат от клетката до възстановяване на потенциала на покой (реполяризация).

Въз основа на анализ на получените резултати за йонните токове Ходжкин и Хъксли формулират следните *основни принципи*:

- преносът на Na^+ и K^+ се извършва през различни невзаимодействащи си структури - йонни канали;
- изменението на йонните токове е следствие от изменението на проводимостите на каналите за Na^+ и K^+ - g_{Na} и g_K ;
- пропускателната способност на мембраната се управлява от електрично поле, т. е. йонните канали са потенциал-зависими.

През 1952 г. Ходжкин и Хъксли предлагат съвкупност уравнения, които представляват добро теоретично описание на експерименталните криви. Изходните уравнения за специфичните проводимости са:

$$\begin{aligned} g_K &= \bar{g}_K n^4, \\ g_{Na} &= \bar{g}_{Na} m^3 h \end{aligned} \quad (13.3)$$

Тогава йонните токове (13.1) придобиват вида:

$$\begin{aligned} I_K &= \bar{g}_K n^4 (\varphi - \varphi_K), \\ I_{Na} &= \bar{g}_{Na} m^3 h (\varphi - \varphi_{Na}) \end{aligned} \quad (13.4)$$

Тук $\bar{g}_{Na}$ и $\bar{g}_K$ са максималните стойности на специфичните проводимости на мембраната, т. е. проводимостите, когато каналите са напълно отворени. Величините

$$n = n(\varphi, t), \quad m = m(\varphi, t) \quad \text{и} \quad h = h(\varphi, t)$$

са функции на потенциала и времето и се определят от система линейни диференциални уравнения. Тези величини имат смисъл на вероятности и стойностите им варират в граници от 0 до 1. Степенните показатели 3 и 4 са подбрани емпирично.

Вероятността m^3 е вероятност за отваряне (активация) на натриевия канал - необходимо е едновременно протичане на 3 неза-

висими събития, всяко от тях с вероятност m . Образно казано, необходими са 3 ключа, за да се отвори активационната врата и да започне деполяризацията. Вероятността h е вероятност за затваряне на канала и тя се мени от 1 (при деполяризация) до 0 (при реполяризация). Калиевите канали се отварят бавно при деполяризацията и вероятността те да бъдат отворени е h^4 . За това е необходимо едновременно протичане на 4 независими събития, всяко от тях с вероятност h .

Тълкуването на уравненията за проводимостите е по-нагледно, ако се използва представата за *хипотетични частици, наречени активатори*, които регулират проводимостта на каналите. Така проводимостта на натриевия канал се обяснява с наличието на два типа частици: 3 активиращи m -частици и една блокираща h . Каналът ще пропуска Na^+ , ако в него под действие на потенциала едновременно попаднат 3 m -частици и се отстрани една частица h . Аналогично, калиевият канал ще пропуска K^+ , ако в него се съберат 4 h -частици. Тъй като тези частици са еднотипни и трябва да бъдат отрицателни, може да се счита, че в този случай от канала се отстраняват два Ca^{2+} . Досега обаче всички опити за откриване на такива активиращи частици в каналите са завършвали безуспешно.

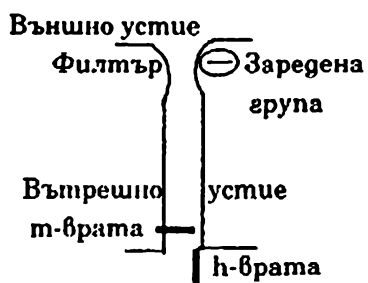
§ 13.4. Йонни канали

Йонните канали, за разлика от порите в мембраната, обикновено са затворени и се отварят за кратко време в отговор на определени физични или химични въздействия (стимули). Те имат механизми, наречени "врати" или "порти" за отваряне (активация) и за затваряне (инактивация) на канала. Независимо, че активираният стимул продължава да действа, инактивационната врата затваря канала след известно време и прекратява йонния ток. Потенциал-зависимите канали се отварят при промяна на мембрания потенциал и осигуряват предаването на електрическите сигнали през мембраната.

❖ *Ток през единичен канал* в парче от мембрана на жива клетка е регистриран за първи път от Неер (E. Neher) и Закман (B. Sakman) през 1976 г. Те допират специален микроелектрод (clamp, англ.), поставен в

тънка стъклена пипета с диаметър при върха 1 - 5 μm , до парче (patch, анал.) от мембраната, съдържащо един или няколко канала. По този начин парчето се изолира от останалата част на мембраната, без да се разрушава клетката. За откритията, направени с този метод, наречен patch-clamp, Неер и Закман получават Нобелова премия по физиология и медицина за 1991 г.

Йонните канали са белтъчни образувания със селективна проницаемост. Натриевите канали се инактивират от УВ-лъчение и максимумът на инактивацията съвпада с максимума на абсорбционния спектър на белтъците (280 nm). Участъкът на натриевия канал, отговорен за инактивацията, се хидролизират от протеолитични ензими. Това показва, че той, а вероятно и другите видове канали, са с белтъчна природа. Сега се счита, че всеки канал има *три* участъка с различна ширина на отвора (фиг. 13.6): външно устие, селективен филтър и вътрешно устие, а освен това има и устройства (*врати*), които отварят и затварят канала.



Фиг. 13.6. Схема на натриев канал

Предполага се, че катионите се разпознават от канала още във входното устие, където има отрицателно заредени групи, отблъскващи анионите. Селективният филтър също съдържа отрицателни заряди, вероятно кислородни атоми, които образуват водородни връзки с преминаващия йон и неговата хидратна обвивка. Радиусът на Na^+

е по-малък от радиуса на K^+ , но хидратната обвивка около Na^+ има по-голям радиус от тази около K^+ . Това може да е причина за по-малката проницаемост на мембраната за Na^+ в сравнение с тази за K^+ .

Активационната врата на потенциал-зависимите канали е сензор, възприемащ промените на мембранный потенциал. Той е изграден от положително заредени и полярни аминокиселинни остатъци, които под действие на промените в потенциала се преместват и каналът се отваря. Движението на техните заряди създава слаб електричен ток, наречен *ток на вратата* или *портален ток*. Той предшества значително по-силния йонен ток през канала, чиято големина е около 10^7 йони в секунда. Ако в клетката се внесат

протесолитични ензими, инактивацията на натриевите канали се потиска, без да се засяга активацията. Това показва, че инактивацията се дължи на втора, инактивационна врата в структурата на белтъчния канал.

❖ Важно значение за идентификацията на йонните канали и за разделянето на йонните токове имат вещества, които избирателно инхибират, блокират или активират йонната проводимост на мембраната. Така например водоразтворимият парализиращ токсин *тетродотоксин*, изолиран от рибата балон и калифорнийския саламандър, прекратява навлизането на Na^+ , ако се намира от външната страна на мембраната. Внесен обаче вътре в аксона той не влияе на проницаемостта на мембраната за тези йони. Това показва, че участъкът от канала, който той блокира, се намира от външната страна на мембраната.

Стероидният алкалоид *батрахотоксин*, изолиран от кожата на колумбийската жаба, има противоположно действие върху мембранната проницаемост за Na^+ . Той действа както от външната, така и от вътрешната страна на мембраната и повишава нейната проницаемост. Вследствие на това мембранный потенциал пада и в някои случаи си сменя знака. Един друг инхибитор - *тетраетиламоний*, внесен в аксона, не променя проницаемостта за Na^+ , но напълно прекратява движението на K^+ през мембраната.

Много съединения действат на нервната система, защото променят проницаемостта на йонните канали. *Локалните анестетици и антиконвулсанти* блокират натриевите канали, при което аксонът загубва способността си да предава импулс. Те проникват чрез дифузия през водната фаза или липидния слой в областта на канала, свързват се с рецепторната група и затварят отбора на канала. Органични блокери на Ca^{2+} се използват като съдоразширяващи средства и антиаритмици. Много болести се дължат на дефекти в регулацията или в структурата на йонните канали, като например кистозна фиброза (Cl^- канали), някои сърдечно-съдови заболявания (Ca^{2+} канали) и мускулни нарушения (Na^+ и Cl^- канали). Изследването на структурата и свойствата на каналите има голямо значение не само за теорията, но и за практиката, тъй като изяснява механизма на действие на токсини и лекарства и дава възможност за целенасочен синтез на нови лекарствени средства.

Глава VI. ПАСИВНИ ЕЛЕКТРИЧНИ СВОЙСТВА НА КЛЕТКИ И БИОЛОГИЧНИ ТЪКАНИ

§ 14. ПОВЪРХНОСТЕН ЕЛЕКТРИЧЕН ЗАРЯД НА ДИСПЕРГИРАНИ ЧАСТИЦИ, БИОМОЛЕКУЛИ И КЛЕТКИ

§ 14.1. Значение и произход на повърхностния електричен заряд на клетките

Повърхностите на електрически заредените и незаредените частици придобиват електричен заряд след диспергирането им в течна среда. Големината на този заряд нараства с площта на повърхността и е особено съществен за финодисперсните частици, за които площта е значително по-голяма от обема. Към различни *електрокинетични явления* се отнасят както движението на дисперсната фаза или среда под действие на външно електрично поле, така и създаването на потенциални разлики в резултат от механично преместване на фазите.

Клетките и тъканите са сложни хетерогенни системи с много разделителни граници, на които се образува повърхностен електричен заряд. Електрокинетичните явления дават възможност да се провеждат физикохимични изследвания на клетъчни повърхности и биологични структури.

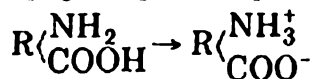
Електричните заряди, фиксирани по повърхността на клетъчните мембрани, са важен *фактор за протичането на много биоелектрохимични процеси*. Те влияят върху проникваемостта на стениите на кръвоносните съдове, транспорта на йони и макромолекули през тях, скоростта на кръвта в капилярите, взаимодействието между клетки, взаимодействието между клетки и макромолекули при процеси за разпознаване (хормон/рецептор, антиген/анти тяло), върху процесите на кръвосъсирване и др. Затова съвременните представи за молекулярния произход на редица заболявания и тяхното

лечение вече се свързват с изменения в електростатичните взаимодействия на клетъчно и молекулно ниво. Тези взаимодействия се проявяват например при процесите на метастазирание, при нарушения в кръвосъсирването, газовия и йонния транспорт, при тъканната съвместимост и се имат предвид при разработването на изкуствени биоматериали за трансплантация и протезиране.

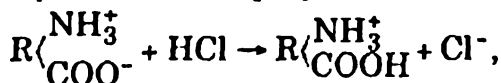
Електричният заряд по повърхността на колоидни частици, молекули и клетки се образува по два начина. Повърхностите, които не могат да образуват йони (напр. масла, холестерол, целулоза), наречени нейногенни, *адсорбират йони* от дисперсната среда. Адсорбцията на йони се определя от наличието на полярни нейногенни групи като хидроксилни, карбонилни, пептидни и др. Адсорбират се главно аниони, тъй като те се хигратират в по-малка степен от катионите. Повърхностите, които съдържат йоногенни групи като карбоксилни, аминни и др., се зареждат електрично в резултат от *дисоциацията* на тези групи.

Основни *компоненти на животинските клетъчни мембрани* са липидите, белтъците и олигозахаридите (в молекулите на гликولیпидите и гликопротеините). Всяка фосfolипидна молекула съдържа в полярната си глава единични йоногенни и няколко полярни нейногенни групи. Затова нейният повърхностен заряд се дължи главно на адсорбцията на йони от течната фаза. Хидроксилни и карбонилни групи обуславят адсорбцията на йони в гликولیпидите. Освен това олигозахаридните вериги на ганглиозидите и на някои мембранни гликопротеини съдържат остатъци на сиаловата киселина, чиято карбоксилна група носи отрицателен заряд при pH 7,0.

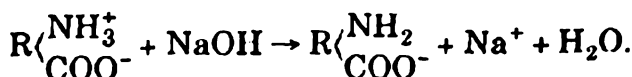
Белтъчните молекули имат едновременно киселинни и алкални групи и във водна среда се дисоциират на биполярни йони:



В кисела среда биполярният йон се превръща в катион:



а в алкална – в анион:



Повърхностният електричен заряд на клетъчните мембрани е алгебрична сума от зарядите на шехните компоненти. Различното съотношение между тях води до специфичност на клетките и по отношение на повърхностния им заряд. Независимо по какъв начин е получен зарядът върху една повърхност, той винаги е компенсиран с равен на него и противоположен по знак заряд на йоните в течността. Тези йони се наричат *противойони*, а йоните, фиксирани върху повърхността – *потенциалообразуващи йони*. В примерите с белтъчната молекула противойони са Cl^- и Na^+ , а белтъчният катион и анион са потенциалобразуващи.

§ 14.2. Уравнение на Поасон-Болцман

Пространството около повърхността, в което потенциалобразуващите йони и противойоните имат несиметрично разпределение, но като цяло е електронеутрално, се нарича *двоен електричен слой*. Една част от противойоните в него е свързана с повърхността чрез електростатични сили и сили на адсорбция и образува така наречения *плътен слой* или слой на Щерн (Stern) или Хелмхолц (H. Helmholtz). Останалата част създава близо до повърхността атмосфера от йони, известна под името *дифузен електричен слой* (фиг.14.1 а).

Разпределението на йоните от дифузната част на двойния електричен слой се определя от действието на два фактора – електростатично привличане към противоположно заредената повърхност и противопоставящо се на него хаотично топлинно движение. В резултат на това се установява равновесие между концентрациите на катионите c^+ и на анионите c^- , като равновесната концентрация е най-голяма до повърхността и намалява с отдалечаване от нея.

Нека означим с φ_0 електричния потенциал на повърхността, а с φ - потенциала на разстояние x , като присмем, че достатъчно далече от нея той става равен на нула. Тогава концентрацията на йоните c_i в точка x с потенциал φ се изразява по статистическия закон на Болцман (11.3) чрез тяхната концентрация c_∞ в оная част на разтвора, където потенциалът става нула и чрез безразмерния потенциал ψ (11.4):

$$c_x = c_\infty e^{-\frac{zF}{RT}\psi} = c_\infty e^{-\psi}.$$

В случай на бинарен симетричен електролит

$$c_\infty^+ = c_\infty^- = c_\infty, \quad z^- = -z^+ = z$$

и концентрациите на йоните на разстояние x стават

$$c_x^+ = c_\infty e^{-\psi}, \quad c_x^- = c_\infty e^{\psi}.$$

Плътноста на зарядите ρ за един мол в точка на разстояние x е равна на разликата в

концентрациите на катионите и анионите, умножена по броя на зарядите им z и константата на Фарадей F :

$$\rho = zFc_\infty(e^{-\psi} - e^{\psi}).$$

При малки стойности на потенциала ψ , въз основа на (11.10),

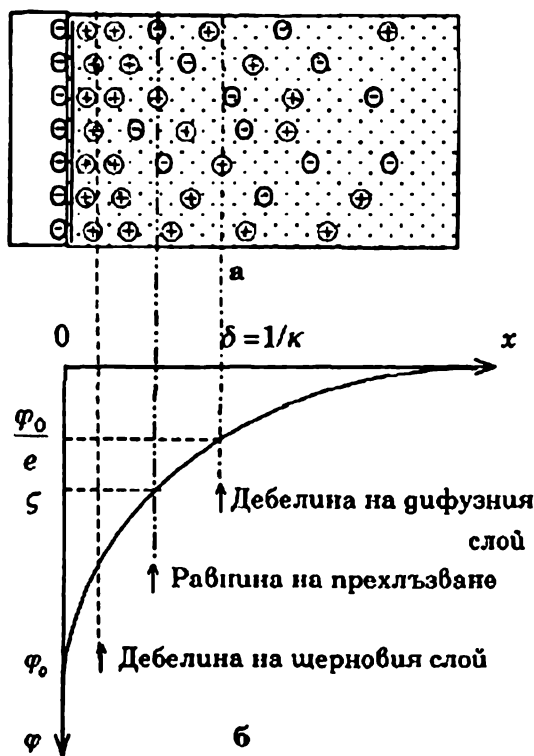
$$\rho = -2zFc_\infty\psi.$$

След заместването на безразмерния потенциал ψ от (11.4) за ρ окончателно се получава:

$$\rho = -\frac{2z^2F^2c_\infty}{RT}\varphi. \quad (14.1)$$

Този резултат, получен без отчитане на ефектите от крайните размери на йоните и заряда на адсорбираните йони на повърхността, носи името *приближение на Гуи – Чапман* (G. Gouy, D. Chapman).

Разпределението на електричния потенциал в дифузия електричен слой се намира като решение на едно от основните уравнения в електростатиката – *уравнението на Поасон* (Poisson). В едномерен случай, например когато потенциалът се изменя само по



Фиг. 14.1. Двоен електричен слой при плоска повърхност (а) и зависимост на потенциала φ от разстоянието x (б)

Разпределението на електричния потенциал в дифузия електричен слой се намира като решение на едно от основните уравнения в електростатиката – *уравнението на Поасон* (Poisson). В едномерен случай, например когато потенциалът се изменя само по

оста x , това уравнение свързва втората производна на потенциала, т. е. изменението на градиента на потенциала, с плътността на зарядите ρ :

$$\frac{d^2\varphi}{dx^2} = -\frac{\rho}{\varepsilon}. \quad (14.2)$$

Тук ε е абсолютната диелектрична проницаемост на електролита. След заместване на ρ от (14.1) в (14.2) се получава линеализираното уравнение на Поасон-Болцман

$$\boxed{\frac{d^2\varphi}{dx^2} = \kappa^2 \varphi},$$

където

$$\kappa^2 = \frac{2z^2 F^2 c_\infty}{\varepsilon RT}. \quad (14.3)$$

Решението му

$$\boxed{\varphi = \varphi_0 e^{-\kappa x}} \quad (14.4)$$

показва, че с отдалечаване от заредената повърхност потенциалът намалява експоненциално и отговаря на граничните условия: при $x = 0$, $\varphi = \varphi_0$, а при $x = \infty$, $\varphi = 0$ (фиг. 14.1 б). Стръмнината на кривата се определя от величината κ , която зависи от концентрацията на йоните и диелектричната проницаемост. Основното изменение на потенциала се получава на разстояние $\delta = \frac{1}{\kappa}$, наречено *дебаева екранираща дължина или дебелина на дифузия слой*. Както се вижда от (14.4), на разстояние $x = \delta$ повърхностният потенциал φ_0 намалява е пъти, т. е. достига стойност, която е 36,8 % от началната.

Големината на δ може да се пресметне от израза (14.3), след като в него се заместят стойностите на константите и съответните величини. В разредени водни разтвори тя достига десетки нанометри (напр. за дестилирана вода е от порядъка на 100 nm), а в концентрирани с части от нанометъра (напр. 0,7 – 0,8 nm за физиологичен разтвор). Наличието на двувалентни йони намалява дебелината на дифузия слой и той става по-плътен.

Двувалентните катиони и катионите на алкалните метали оказват влияние на повърхностния потенциал на клетъчните мембрани алавно като екранират фиксираните заряди на мембраните. За разлика от тях водородните йони (H^+) се свързват към фиксираните заряди и намаляват плътността им, протонирайки съответни групи. Такива йони, способни на специфична адсорбция, определят потенциала за разлика от индиферентните, които участват в екранирането.

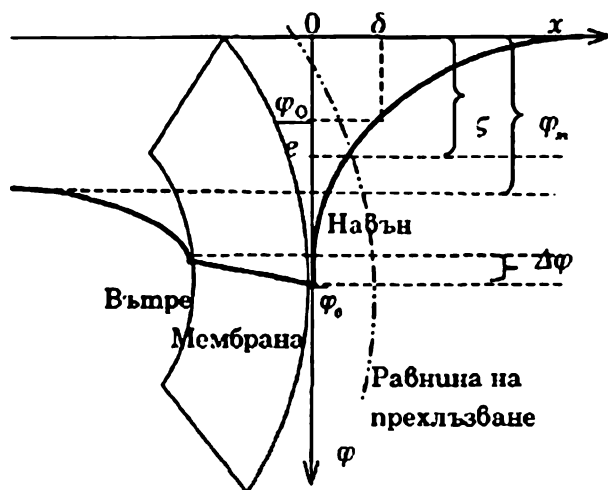
Повърхностният електричен потенциал не може да бъде измерен експериментално с преки методи. Измерва се друга стойност, близка до неговата, наречена *електрокинетичен или ζ - (дзета) потенциал*. Тя се дефинира като стойност на потенциала в равнината на прехлъзване на електролита спрямо повърхността на твърдата фаза (фиг. 14.1). Под действие на външно електрично поле диспергираните частици и клетки заедно с близките до тях йони на дифузияния слой се преместват в електролита. Равнината на прехлъзване отделя йоните, движещи се с частиците или клетките, от онези йони, които запазват положението си в електролита. Обикновено тази мислена равнина се намира в двойния електричен слой, но рядко съвпада с равнината, отделяща дифузната от плътната част на слоя.

§ 14.3. Изменение на потенциала в мембрана и в близост до двете ѝ страни

Повърхностният потенциал от двете страни на една мембрана има различни стойности, поради което и потенциалът в мембраната не е постоянен и се меня приблизително линейно (фиг. 14.2). От двете страни на разделителните граници мембрана/течна фаза потенциалът се променя с разстоянието почти експоненциално до достигане на постоянни стойности. Тези изменения се наричат *междофазови скокове* на потенциала. Разликата между постоянните стойности на потенциала в течните фази от двете страни на мембраната се нарича *мембранен или трансмембранен потенциал* φ_m .

Разпределението на електричния потенциал в клетъчната мембрана и близо до нейните граници е главният фактор, който

определя посоката и скоростта на транспорта на йони през мембраната. Основна движеща сила на йонния транспорт обаче е изменението на потенциала вътре в мембраната $\Delta\varphi$. Освен това потокът на йоните е пропорционален на тяхната концентрация в мембраната, а за нея имат значени междофазовите скокове на потенциала. Трети фактор е подвижността на йоните, която се определя от вискозитета на липидната фаза в мембраната.



Фиг. 14.2. Изменение на електричния потенциал φ от двете страни на клетъчна мембрана, φ_m – трансмембранен потенциал, $\Delta\varphi$ – изменение на потенциала вътре в мембраната

Както се вижда от схемата на фиг. 14.2, електрокинетичният потенциал ζ не отразява пълно електричното състояние на мембраната, тъй като по големина е само част от трансмембрания и се отнася само за течната фаза в близост до външната страна на мембраната.

§ 14.4. Електрофоретична подвижност

Електрофорезата е електрокинетично явление, при което заредени дисперзирани частици се преместват под действие на външно електрично поле. По действие на силите тя прилича на седиментацията – на силата, която движи частицата, се противопоставя силата на триене на частицата със средата. Електрично поле с интензитет E действа на една частица със заряд q , суспендирана в диелектрична среда, със сила

$$F = qE.$$

Частичката се движи с постоянна скорост v , тъй като, съгласно закона на Стокс

$$F_s = 6\pi\eta r v ,$$

с нарастване на скоростта нараства и силата на триене F_s , докато се изравни с движещата сила F :

$$qE = 6\pi\eta r v . \quad (14.5)$$

Тук η е вискозитетът на средата, а r – радиусът на сферична частица.

Скоростта на насоченото движение v на йон или заредена частица, придобита под действие на електрично поле с интензитет $E = 1 \text{ V/m}$, се нарича *йонна или електрофоретична подвижност* b . От тази дефиниция и (14.5) следва, че

$$b = \frac{v}{E} = \frac{q}{6\pi\eta r} . \quad (14.6)$$

Както се вижда от (14.6), електрофоретичната подвижност на частиците нараства с увеличаване на електричния им заряд и намалява с увеличаване на вискозитета на средата и размерите им, т. е. с увеличаване на тяхната маса. Тази величина е различна от дифузионната подвижност u , дефинирана с (8.9), която се отнася за дифундиращи частици под действие на движеща сила $f = 1 \text{ N}$ (вж. § 8.4). Двете подвижности са свързани с равенството $b = qu$.

Измерителната единица за b се получава от единиците за v и E . В системата SI тя е квадратен метър за секунда по волт на минус първа степен, но на практика се използва единицата микрометър в секунда върху волт на сантиметър, която е 10^{-8} пъти по-малка:

$$[b] = \frac{\text{m}^2}{\text{s} \cdot \text{V}} = 10^{-8} \frac{\mu\text{m}}{\text{s} \cdot \text{V/cm}} .$$

Електрофоретичната подвижност се определя експериментално, като се измерва скоростта на частицата v :

$$v = \frac{d}{t} ,$$

където d е пътят, изминат за време t . Обикновено от електричните величини се измерват големината на тока I и специфичната проводимост на електролита κ (вж. § 15.1). Тогава, по законите на Ом (15.2) и (15.1), напрежението U между два електрода на разстоя-

ние l един от друг е

$$U = IR = I \frac{l}{\kappa S},$$

където S е напречното сечение на съда с електролит. Интензитетът на полето E се изразява чрез напрежението и разстоянието между електродите l :

$$E = \frac{U}{l} = \frac{I}{\kappa S}.$$

Зависимостта, по която се определя подвижността b , се намира след заместване на v и E в дефиниционното равенство (14.6):

$$b = \frac{\kappa S d}{I t}. \quad (14.7)$$

Електрофоретичната подвижност на заредени частици, които имат значително по-голям радиус от дебелината на двойния електричен слой ($r \gg 10^{-10} \text{ m}$), е пропорционална на техния електрокинетичен потенциал ζ :

$$b = \frac{\epsilon \zeta}{\eta}. \quad (14.8)$$

Тук ϵ и η са съответно диелектричната проницаемост и вискозитетът на дисперсната среда.

Тази формула на Смолуховски (M. Smoluchowski) е валидна за еритроцити, левкоцити, микроорганизми и други клетки, но не е приложима за молекули. Според нея b не зависи от големината и формата на частиците. Наистина опитите показват, че различни неорганични и биологични обекти с еднакъв ζ -потенциал имат еднаква подвижност. Това е така, защото с нарастване на радиуса на частицата нараства не само силата на триене, но и нейната повърхност и съответно повърхостният ѝ електричен заряд.

За частици с радиус, сравним с дебелината на двойния електричен слой, каквито са белтъчните молекули, подвижността b зависи и от размерите, и от формата на частиците. В такива случаи е в сила формулата на Дебай (Debye) и Хюкел (Hückel), която се отличава от тази на Смолуховски по един коефициент k :

$$b = k \frac{\epsilon \zeta}{\eta}.$$

Той е безразмерен и има различна стойност в зависимост от размерите и формата, като за сферични частици с $r \ll \delta$, $k = \frac{2}{3}$.

§14.5. Зависимост на електрофоретичната подвижност от киселинността и йонната сила на средата

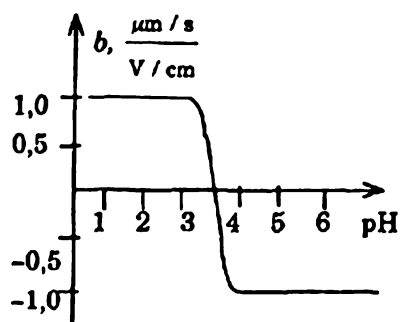
Всички фактори, които влияят на двойния електричен слой, влияят и на големината и знака на електрокинетичния потенциал. Най-силно е влиянието на концентрацията на водородните йони $[H^+]$ (изразявана чрез водородния показател $pH = -\lg[H^+]$) и на йонната сила на средата.

Йонната сила на разтвор I се дефинира като полусума от произведенията на концентрацията на всеки вид йони c_i с квадрата на заряда му z_i :

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n c_i z_i^2. \quad (14.9)$$

Ясно е, че в случай на два еднозарядни йона ($z_1 = z_2 = 1$) с еднаква концентрация ($c_1 = c_2 = c$) йонната сила съвпада с концентрацията ($I = c$).

Влиянието на pH върху електрофоретичната подвижност



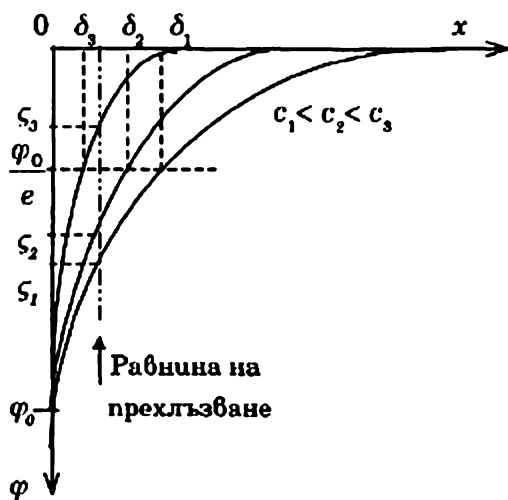
Фиг. 14.3. Най-общ случай на зависимост между подвижността b и pH

на клетки при постоянна йонна сила се обяснява с промяната на повърхностния им заряд поради различна степен на дисоциация на киселини и алкални групи (вж. § 14.1). С измервания в различни буферни среди е доказано, че при ниски стойности на pH ζ -потенциалът е положителен, а с нарастване на pH той намалява и променя знака си (фиг. 14.3). Тази промяна на знака съответства на промяната на знака на повърхностния заряд.

Стойността на pH , при която ζ -потенциалът става нула, се нарича *изоелектрична точка*. Тогава броят на положително заредените групи от клетъчната мембрана е равен на броя на отрица-

телно заредените и клетките не се движат в електрично поле. В такава изоелектрично състояние живите клетки загиват.

При постоянен повърхностен заряд и постоянна стойност на рН електрокинетичният потенциал на клетките и частиците зависи от йонния състав на дисперсната среда. Тази зависимост е свързана с изменението на дебелината на дифузия слой δ . Ако повърхността на дисперсната фаза е заредена отрицателно, добавянето на едновалентни катиони предизвиква намаляване на ζ -потенциала по абсолютна стойност при предположение, че равнината на прехлзване не се измества (фиг. 14.4).



Фиг. 14.4. Зависимост на потенциала от разстоянието при различни концентрации на йоните

Увеличаването на концентрацията води до свиване и уплътняване на йонната атмосфера около повърхността на частицата, тъй като все по-голяма част от катионите преминава от дифузия в адсорбционния слой. Двувалентните и многовалентните йони в значително по-голяма степен намаляват ζ -потенциала и даже могат да предизвикват смяна на знака му.

От дебелината на двойния електричен слой и големината на ζ -потенциала в голяма степен зависи *стабилността на суспензиите* от заредени колоидни частици или клетки. На разстояния между частиците, при които дифузионните части на двойните им електрични слоеве се припокриват, се проявяват силите на електростатично отблъскване. Тези сили пречат на частиците да се доближават толкова, че от тях да се получат агрегати, които лесно се утаяват.

Отблъскването между частиците нараства пропорционално на дебелината на дифузия слой и следователно на ζ -потенциала. Факторите, които предизвикват намаление на ζ -потенциала, засил-

ват коагулацията на колоидните частици и агрегацията на суспендираните клетки. Най голямо влияние от тях имат стойностите на рН и йонната сила на дисперсната среда. Така например добавянето на соли, съдържащи многовалентни метални катиони, предизвиква интензивна агрегация на еритроцити и бактериални клетки.

Има редица примери обаче, които показват, че не само ζ -потенциалът има значение за намаляване на агрегацията. Някои клетъчни суспензии имат различна стабилност, въпреки че съдържат клетки с еднакъв ζ -потенциал. Това означава, че стабилността освен от електростатичното отблъскване се определя и от кохезионните сили, действащи на малки разстояния. Някои вещества се адсорбират по повърхността на клетките, увеличават кохезията между тях и предизвикват аглутинация и утаяване. Такива вещества например са аглутинините, които се образуват в кръвта при изработване на имунитет. Те въздействат на някои бактерии точно по този механизъм и прекратяват болестотворното им действие.

§ 14.6. Вигове електрофореза

В зависимост от целите и начина на провеждане електрофорезата най-общо се дели на микро - и макроелектрофореза.

• *Микроелектрофореза*

Микроелектрофорезата е метод за *определяне на електрофоретична подвижност и електрокинетичен потенциал* на отделни частици в колоидни разтвори и на клетки в клетъчни суспензии. Под действието на електрично поле те се преместват в електрофоретичната камера и скоростта им се определя с помощта на микроскоп. Поради голямото ѝ приложение при изследване на клетки микроелектрофорезата се нарича още *клетъчна електрофореза*.

С този метод са получени много данни за различни клетки, които показват, че всеки вид има характерен повърхностен заряд. Въз основа на това се приема, че неговата стойност е генетично детерминирана. Най-много изследвания са проведени върху еритроцити на хора и животни. Получените стойности за електрокинетичния потенциал на еритроцити при рН 7,4 са между 7 и 22 mV, а

за човек - около 16 mV. С клетъчна електрофореза за пръв път са разграничени Т- и В- лимфоцитите, с което се даде възможност имунологичните изследвания да навлязат в клиничната диагностика.

Промените на електрокинетичния потенциал могат да бъдат използвани като *допълнителен диагностичен показател*, тъй като те са свързани с промени в клетъчната повърхност, настъпили при редица патологични състояния. Така например вирусът на грип може да намали до 50% електрофоретичната подвижност на еритроцитите. Около 30% е намалението при болни от рак с различна локализация. Други заболявания водят до различни по големина отклонения в подвижността на левкоцитите. *Действието на различни лекарства*, които нормализират състоянието на мембраните, може да се изследва с помощта на клетъчна електрофореза. Оказва се, че някои от тях, като съдържащите агломерини, хлорпромазин, някои антибиотици и др., могат да увеличават или намаляват електрофоретичната подвижност в зависимост от прилаганата концентрация.

Много изследвания са проведени и върху ζ -потенциала на *бактериални клетки*. Дори зависимостта му от pH е използвана за разделяне на бактериите на две групи. В едната са включени тези бактерии, при които ζ -потенциалът зависи от pH, а в другата – онези, при които няма такава зависимост. Това означава, че повърхностният заряд на бактериите от първата група е резултат от дисоциацията на йоногенни групи на белтъци, а на бактериите от втората група – от адсорбцията на йони в полизахаридите на мембраната.

• *Макроелектрофореза*

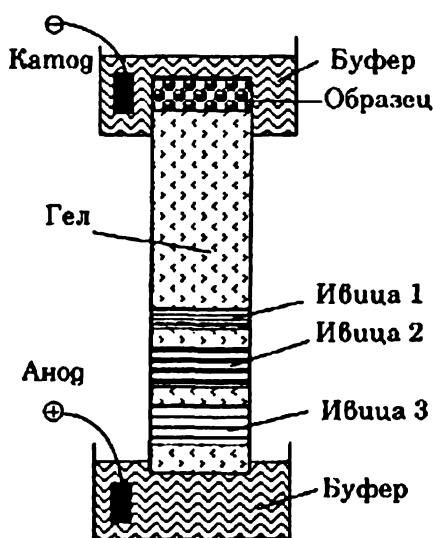
При макроелектрофорезата се следи движението на макроколичества, а не на отделни частици от изследваната проба. Макроелектрофорезата се използва главно с аналитична, препаративна и физиотерапевтична цел. *Аналитичната* е метод за определяне на химичния състав на смеси и техните компоненти. *Препаративната* е за получаване на количества от отделни фракции на смеси, а посредством *лекарствената електрофореза (йонофорезата)* се внасят лекарствени вещества през кожата или лигавиците.

Макроелектрофорезата носи различни имена в зависимост от начина, по който образецът се внася между електродите, от ви-

да на средата между електродите (*свободна или с носител*), от формата на работния обем и др. Тя е *зонна*, когато образецът се внася под форма на петно или ивица и *непрекъсната (проточна)*, ако той се подава като непрекъсната струя. Работният обем може да бъде ограничен в отвесна *колонка* или в *тясна камера* между две близко разположени пластинки.

Ако електрофорезата се извършва в разтворител (свободна електрофореза), разделителните граници между разтворените вещества се размиват. За да бъдат тези граници резки, разтворителят се внася в инертна хомогенна среда, наречена *носител*, която не пречи на частиците на веществата да се движат под действие на електричното поле. Носителят предотвратява конвекционните потоци, предизвикани от температурни промени, различна плътност на разтворите и механични въздействия. За носител може да се използва целулоза (електрофореза върху хартия) или някакъв гел (гел-електрофореза) като нишесте, азароза, полиакриламид и др.

Пример за *аналитична електрофореза* с носител полиакрил-



Фиг. 14.5. Схема на колонка за разделяне на белтъци с аналитична гел-електрофореза

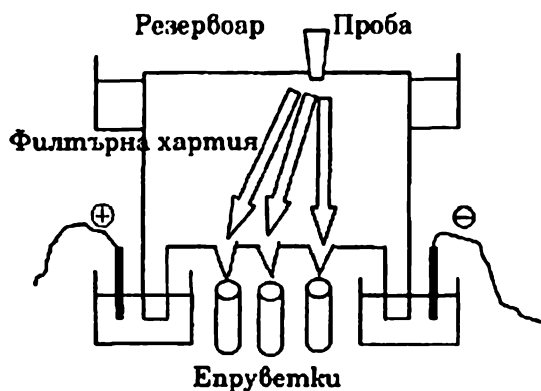
амиден гел с изследването на мембранни белтъци. Първоначално мембраните се солубилизират в 1% разтвор на анионния детергент натриев додецилсулфат (НДС) при неутрално рН, за да се разрушат белтък-белтъчните и белтък-липидните връзки. Полученият разтвор се нанася върху полимеризирал в колонка полиакриламиден гел, също съдържащ НДС (фиг. 14.5) или в камерата между две близко разположени пластинки. Двама края на колонката и електродите, с които се подава електричното поле, са потопени в буферен раз-

твор. Няколко часа след включване на полето гелът се изважда от колонката и се оцветява, за да се видят ивиците, които представ-

ляват отделните белтъчни фракции. Всяка от тях съдържа много малко количество белтък – от порядъка на μg .

При този метод електрофоретичната подвижност не зависи от заряда на белтъчните молекули, а от масата им. Това е така, защото всички мицели, които молекулите на детергента НДС образуват с белтъчни молекули с различна маса, имат еднакъв електричен заряд. Неговата стойност се определя само от големия отрицателен заряд на молекулите на НДС. Тъй като електрофоретичната подвижност е обратнопропорционална на масата на частиците (14.6), белтъчните фракции се подреждат в колонката отгоре надолу по намаляване на молекулната маса. Ивиците се означават с номера, които нарастват в същата посока.

Един от най-старите методи за препаративна електрофо-



Фиг. 14.6. Схема на препаративна проточна електрофореза

реза с проточната електрофореза с носител филтърна хартия. Лист филтърна хартия, изрязан както е показано на фиг. 14.6, се закрепва отвесно. Горният му ръб се потапя в резервоар с буферен разтвор, а двете му долни странични части – в съдчетата с буфер, в които са потопени и електродите. Разделяният разтвор се подава непрекъснато в горната част на

листа и под действие на капилярните сили и на тежестта се стича надолу. Електричното поле действа в хоризонтална посока и (в зависимост от заряда) отклонява в различна степен отделните фракции. Заседно с буфера те капят от зъбците на хартията и се събират в отделни епруветки.

Оптималните условия за разделяне се избират опитно, тъй като освен от големината и знака на зарядите, степента на отклонение зависи и от приложеното напрежение, скоростта на подаване на пробата, скоростта на просмукване на буфера, неговия йонен състав и стойността на рН. По този метод се разделят белтъци,

пептиди, аминокиселини и други по-малки молекули и неорганични йони. Сега той се прилага в нов вариант за разделяне на белтъци и клетъчни суспензии, като за носител служи изотоничен фосфатен буфер в широка наклонена камера. Той е експериментиран при космични полети и показва значително по-висока разделителна способност в условията на безтегловност, отколкото при наличие на гравитационно поле.

Лекарствената електрофореза е метод за внасяне на лекарствени вещества през кожата и лигавиците с помощта на електрично поле. Обикновено се използват водни разтвори, в които веществата са под формата на йони, поради което методът е известен и като *йонофореза*. Йоните с лечебно действие се внасят като разтворът се поставя на определено място от кожата под едновременно заредения електрод. Така например катионите на Ca, Mg, Li, Zn, Hg, хинин, новокаин, адреналин, стрептомицин и др. се внасят с анода, а анионите на J, Br, Cl, пеницилин и др. - с катода.

Кожата е пореста мембрана, която има писка проницаемост за йоните, тъй като порите ѝ са запълнени с въздух. За изтласкване на въздуха от тях спомага *електроосмозата* на частиците на течността, тъй като по стените на порите има фиксиран електричен заряд, а навлезлите в тях течности съдържат противойони. След запълването на порите с течност проницаемостта на кожата значително се повишава. *Масата на внесеното вещество m* е пропорционална на пренесеното количество електричество Q (по закона на Фарадей за електролизата), а освен това и на площта S , през която се внася:

$$m = KQS.$$

Тук K е *йонофоретичната проницаемост* за определено място от кожата и за определен вид йони.

Йонофорезата, подобно на *лекарствената ултрафонофореза*, дава възможност за локално, нетравматично и ефективно лечение на някои заболявания, тъй като позволява лекарството да достигне бързо необходимата концентрация на определено място от човешкото тяло.

§ 15. ЕЛЕКТРОПРОВОДИМОСТ НА КЛЕТКИ И ТЪКАНИ ЗА ПОСТОЯНЕН ТОК

§ 15.1. Електрични свойства на биологични системи

Електричните свойства на биологичните системи, подобно на механичните (вж. § 17.1), се делят на *пасивни* и *активни*. Пасивните се проявяват при външно въздействие, което в случая е прилагането на външно електрично напрежение. Активните електрични свойства са резултат от вътрешни процеси, които водят до възникване на електрични заряди, т. е. на биопотенциали (вж. Глава V).

Електропроводимостта е пасивно свойство, тъй като е способност на системата да пропуска електричен ток. При проводниците тя се характеризира с величината специфична електрична проводимост κ , която представлява реципрочната стойност на специфичното съпротивление ρ . То е въведено още от Ом (G . Ohm) чрез съпротивлението R на хомогенен проводник с правилна геометрична форма, сечение S и дължина l :

$$R = \rho \frac{l}{S}, \quad \kappa = \frac{1}{\rho}. \quad (15.1)$$

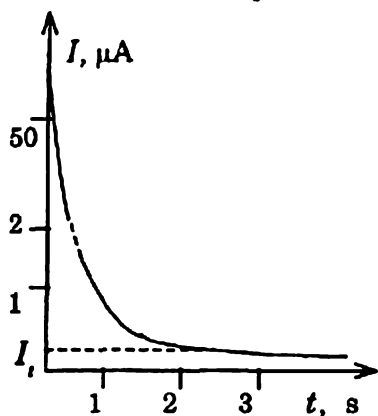
Специфичната електропроводимост се измерва в единицата $\Omega^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$, наричана още сименс на метър (S/m).

Изучаването на електропроводимостта на живите системи е метод за изследване на техните физични свойства, функционално състояние и структура. Още първите изследвания показват, че въпреки високото съдържание на неорганични йони в клетките и извънклетъчната течност, тъканите имат твърде ниска електропроводимост. Това се дължи на диелектричните свойства на мембраните и явлението диелектрична поляризация. Следователно биологичните обекти имат свойства и на *проводници*, и на *диелектрици*.

Ако върху суспензия от клетки в проводящ разтвор е приложено постоянно напрежение, електричният ток обтича клетките, без да преминава през тях. Това е известно приближение се отнася и за тъканите, които могат да се разглеждат като концентрирана суспензия от клетки в междуклетъчната среда. Тъй като тази сре-

да е проводяща, може да се допусне, че и за тъканите е в сила законът на Ом за съпротивлението на проводниците:

$$I = \frac{U}{R}. \quad (15.2)$$



Фиг. 15.1. Изменение на големината на тока с времето при тъкани

Опитно е установено обаче, че при постоянна стойност на приложеното напрежение U големината на тока I бързо намалява с времето (фиг. 15.1). След няколко секунди тя достига една постоянна стойност I_s , която е стотици и дори хиляди пъти по-малка от началната.

Намаляването на първоначалната големина на тока в биологичните тъкани се обяснява с появата на *поля-*

ризационно напрежение U_p , чиято посока е противоположна на посоката на приложеното постоянно напрежение. Неговата големина обаче не е постоянна, а е растяща функция на времето: $U_p = U_p(t)$. Електричното съпротивление R не се изменя с времето и законът на Ом в този случай придобива вида:

$$I = \frac{U - U_p(t)}{R}. \quad (15.3)$$

Това явление може да бъде демонстрирано при пропускане на електричен ток през изследвана тъкан, ако след това проводниците се изключат от външния източник на напрежение и веднага се свържат към галванометър. Галванометърът ще покаже протичане на обратен ток, който бързо намалява с времето.

§ 15.2. Електричен дипол и диелектрик в електрично поле

Електропроводимостта на металите се дължи на свободното движение на техните електрони, на полупроводниците – на движението на електрони и дупки, а на течностите и газовете – на движението на йоните в тях. Под действие на външно електрично

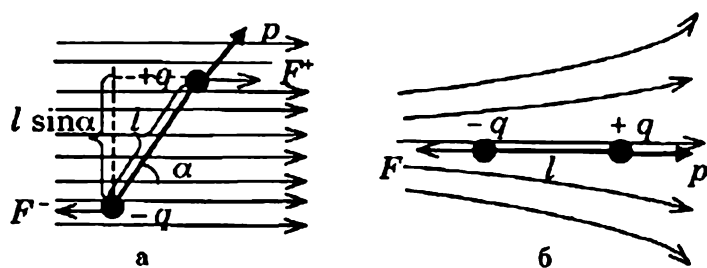
поле електричните заряди в тези тела могат да се преместват на разстояния, които се ограничават от размерите на телата. В тези случаи зарядите се наричат *свободни*, а токът, създаван от тях – *ток на проводимост*.

Диелектриците не провеждат електричен ток, въпреки че в тях има електрични заряди. Това са електрони, свързани в атомите и молекулите и йони в йонните кристали. Тези заряди, наречени *свързани*, могат да се отместват в електрично поле само на микроскопични разстояния от порядъка на размерите на атома и създават *ток на отместване*.

Система от два равни по големина, но противоположни по знак свързани електрични заряда, разположени близо един до друг, се нарича *електричен дипол*. Основна характеристика на дипола е векторната величина *електричен момент* (*диполен момент*). Големината на диполния момент е равна на произведението от положителния заряд q и разстоянието между зарядите l , наречено ос на дипола:

$$p = ql. \quad (15.4)$$

За разлика от посоката на величината интензитет на електричното поле E , която е от положителните към отрицателните заряди, посоката на p по дефиниция е от отрицателния към положителния заряд на дипола. Мерната единица за електричен диполен момент е кулон по метър (С.м). За диполен момент на молекули се използва извънсистемната единица дебай (D): $1 D = 3,33564 \cdot 10^{-30} \text{ С.м}$.



Фиг. 15.2. Дипол в електрично поле:
хомогенно (а), нехомогенно (б)

електрични сили $F^+ = qE$ и $F^- = -qE$ (фиг. 15.2 а). Те образуват двойка сили с рамо $l \sin \alpha$, където α е ъгълът между посоките на векторите E и p , а моментът на силите M е

Във външно хомогенно електрично поле с интензитет E зарядите на дипола са подложени на действие на две равни и противоположни

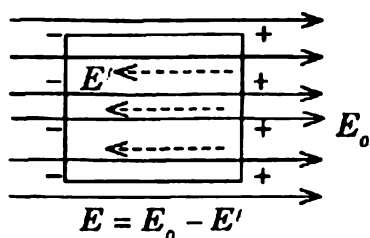
$$M = qE l \sin \alpha = pE \sin \alpha. \quad (15.5)$$

Двойката сили завърта дипола до положение, при което векторите E и p станат успоредни. Тогава $\alpha = 0$ и $M = 0$.

В нехомогенно електрично поле силите F^+ и F^- се различават малко помежду си поради малките размери на дипола (фиг. 15.2 б). Върху дипола пак действа въртящ момент, но освен това действа и електрична сила F , която е пропорционална на нехомогенността на полето и на диполния момент p . В случай, че интензитетът се менни само по посока на оста x , нехомогенността на полето се изразява чрез градиента $\frac{dE}{dx}$ и

$$F = p \frac{dE}{dx}.$$

Силата F има посоката на нарастване на градиента по оста x и в тази посока тя премества дипола. С действието на такива сили се обяснява и привличането на леки телца от по-големи наелектризиранни тела. Лекият телца имат поведението на диполи в нехомогенно електрично поле, създавано от наелектризираните тела.



Фиг. 15.3. Диелектрик в електрично поле

Нека диелектрик с форма на паралелепипед е поставен във външно хомогенно електрично поле с интензитет E_0 , което има посока, перпендикулярна на двете срещуположните му стени (фиг. 15.3). Под действие на полето свързаните заряди в диелектрика се опместват

еден спрямо друг и образуват диполи, а диполите се ориентират по посока на полето. Така всяка от двете срещуположни стени на диелектрика се зарежда с едноименни некомпенсирани електрични заряди - едната с положителни заряди, а другата - с отрицателни. Възникването на електричен поляритет в диелектрик под действието на външно електрично поле се нарича *поляризация на диелектрика*.

Степента на поляризация се характеризира с величината *диелектрична поляризованост* P . При хомогенен диелектрик тя изразява пълния му диполен момент на единица обем:

$$P = \frac{\sum_{i=1}^n p_i}{V} . \quad (15.6)$$

Единицата за тази величина е кулон на квадратен метър (C/m²). Поляризоваността P е пропорционална на интензитета на полето E вътре в диелектрика:

$$P = \epsilon_0 \chi E ,$$

където ϵ_0 е диелектричната константа, а χ е безразмерна величина, характерна за всеки диелектрик, наречена *диелектрична възприемчивост*.

В резултат от поляризацията на диелектрика интензитетът на електричното поле E в него намалява. Той е алгебрична сума от интензитетите на външното електрично поле E_0 и на полето E' , създавано от диполите, което има обратна посока:

$$\boxed{E = E_0 - E'} . \quad (15.7)$$

Като се има предвид, че

$$E' = \chi E ,$$

от (15.7) се получава:

$$\boxed{E = \frac{E_0}{\epsilon_r} , \quad \epsilon_r = 1 + \chi} . \quad (15.8)$$

Тук ϵ_r е *относителната диелектрична проницаемост*. Тя показва колко пъти интензитетът на електричното поле в един диелектрик е по-малък от интензитета на външното електрично поле.

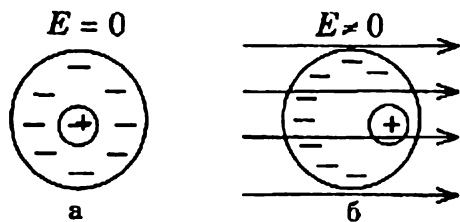
§ 15.3. Видове поляризация на диелектрици и хетерогенни системи

В зависимост от *механизма на възникване* поляризацията е индуцирана или ориентационна. Има и спонтанна поляризация, която се проявява дори без външно електрично поле, но само при някои кристални диелектрици, наречени сегнетоелектрици.

Индуцирана поляризация се получава във вещества, изградени от несвързани атоми или от неполярни молекули (напр. H₂, N₂, CCl₄, CH₄ и др.). Според ядрения модел зарядите в атома са разположени симетрично – центърът на отрицателните заряди на елек-

тронната обвивка съвпада с центъра на положителния заряд на ядрото (фиг. 15.4 а). Зарядите в неполярните молекули също са разположени симетрично.

Ако диелектрик с такъв строеж се постави във външно елек-



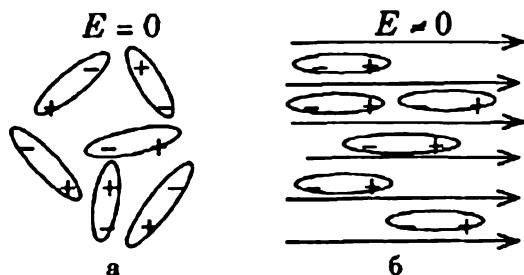
Фиг. 15.4. Електронна поляризация

трично поле, центровете на положителните и отрицателните заряди се отместват в противоположни посоки и градивните му частици се превръщат в индуцирани диполи (фиг. 15.4 б). Този вид диполи се наричат още *еластични*, тъй като могат да се разглеждат като система от разноименни заряди, свързани с еластична сила. Такава индуцирана поляризация се нарича *електронна*. Електронната поляризация се получава след време $\tau = 10^{-16} - 10^{-14}$ s от прилагането на външното електрично поле. Времето τ се нарича *време на релаксация*.

При кристалните диелектрици с йонни кристални решетки, като напр. NaCl, молекулите не са обособени пространствено и целият кристал може да се разглежда като една гигантска молекула. Всяка стена на кристала има еднакъв брой положителни и отрицателни заряди и като цяло кристалът е електронеутрален и неполярен. Външното електрично поле отмества разноименните заряди в противоположни посоки и кристалът се поляризира. Кристалната решетка може да се разглежда като съставена от две взаимнопроникващи решетки – едната е на положителните, а другата - на отрицателните йони. При поляризацията двете решетки се отместват една спрямо друга. Този вид индуцирана поляризация се нарича *йонна*. Нейното време на релаксация е $\tau = 10^{-14} - 10^{-12}$ s.

Ориентационна поляризация се получава при диелектрици и хетерогенни системи, които съдържат *полярни молекули или частици*. Положителният и отрицателният заряди в една такава молекула или частица, макар и да се неутрализират взаимно, са отместени един спрямо друг и техните центрове не съвпадат (фиг. 15.5 а). Полярните молекули са електрични диполи и имат диполен момент без наличие на външно електрично поле. Тези диполи се

наричат още *твърди диполи*, тъй като външното поле не влияе на големината на диполния им момент. Такъв тип диелектрици са вода, етанол, HCl , SO_2 , NO_2 и др.



Фиг.15.5. Ориентационна поляризация

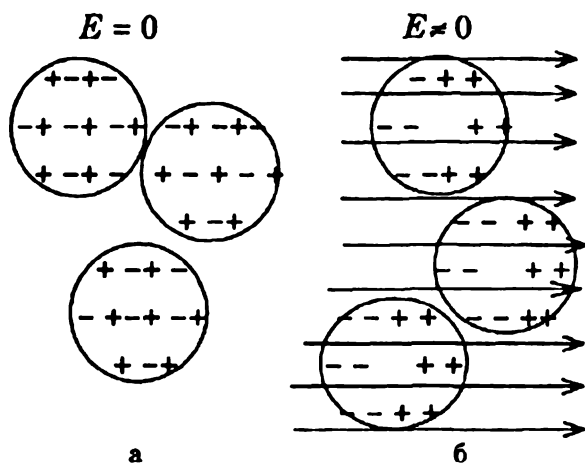
Диелектриците с полярни молекули не са поляризирани, ако не се намират в електрично поле. Това е така, защото вследствие на топлинното движение на молекулите техните диполни моменти p са ориентирани хаотично.

Векторната им сума $\sum_{i=1}^n p_i = 0$ и поляризоваността на диелектрика P (15.6) също е нула.

Външното електрично поле завърта твърдите диполи така, че техните диполни моменти се насочват по посока на полето (фиг. 15.5 б). На ориентацията на диполите се противопоставя топлинното им движение, докато между тези два процеса не настъпи динамично равновесие. Тогава, макар и да няма пълна ориентация на всички диполни моменти в диелектрика, има поляризация, тъй като $\sum_{i=1}^n p_i \neq 0$. Времето на релаксация съвпада с времето за завъртане на дипола и зависи от размерите му и от температурата. Обикновено то е $\tau = 10^{-13} - 10^{-7}$ s. При суспензии на полярни макромолекули и клетки времето на релаксация зависи и от вискозитета на средата и може да бъде от порядъка на секунди.

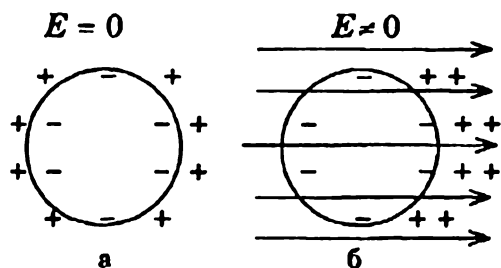
Разгледаните дотук видове поляризация са типични за диелектриците, но се проявяват и при биологичните тъкани, тъй като те имат свойства и на диелектрици. Особеност на биологичните системи е, че поради наличието на мембрани те са хетерофазни и структурирани, поради което при тях се получават и други видове поляризация – макроструктурна и повърхностна (междуфазова) поляризация.

Макроструктурната поляризация е основна за биологичните тъкани, тъй като клетките и клетъчните органели са хетерогенни структури. Мембраните имат високо електрично съпротивление (от порядъка на $1 \text{ k}\Omega/\text{cm}^2$), а цитоплазмата е проводяща среда поради наличието на голямо количество йони (фиг. 15.6 а). В електрично поле свободните йони и електрони могат да се преместват само в границите на проводящата среда, определени от мембраните.



Фиг. 15.6. Макроструктурна поляризация

Така цялата структура (клетката) се поляризира и превръща в гигантски дипол (фиг. 15.6 б). Времето на релаксация е $\tau = 10^{-6} - 10^{-3} \text{ s}$ и зависи от големината на йоните и от разстоянията, на които могат да се преместват. На макроструктурната поляризация се дължи много високата стойност на диелектричната проникваемост на тъканите, достигаща 10^6 в постоянно електрично поле.



Фиг. 15.7. Повърхностна поляризация

Повърхностната поляризация се получава при частици и клетки с повърхностен електричен заряд (фиг. 15.7 а). Електричното поле премества противоионите от дифузионния слой в едната посока на силовите линии (фиг. 15.7 а), а противоположно заредените частици или клетки – в другата. Техните разноименни отместени заряди образуват индуциран дипол. Времето на релаксация е $\tau = 10^{-3} - 1 \text{ s}$ и зависи от размерите на частиците на дисперсната фаза и дебелината на двойния електричен слой.

Освен описаните видове поляризация има и *електродна (електролитна) поляризация*. Тя е наречена така, защото е резултат от преразпределение на йони в близост до електродите, потопени в електролит, през който тече постоянен ток. Върху електродите започват да се отделят продукти от електрохимични реакции и между тях възниква поляризационно електродвижещо напрежение. То има противоположна посока на приложеното напрежение и големината му нараства с времето, докато се изравни с тази на приложеното и го компенсира напълно.

Електродната поляризация трябва да се има предвид, за да не се допускат грешки при електрични измервания в електролити. Такива са и измерванията, свързани с прилагането на външно напрежение върху биологични обекти и отвеждането на биопотенциали от тях. Абсолютно неполяризуеми електроди няма. За да се намали електродната поляризация, измерванията трябва да се правят за кратко време, при слаб ток и с помощта на електроди с голяма площ. По-висока точност се постига със специални електроди, наречени *неполяризуеми*, каквито са електродите от платиширана платина, каломеловият електрод и др. Те се използват широко в биофизиката, биохимията, електрофизиологията и др. не само при постоянен, но и при променлив ток с честота под 1 MHz.

§ 16. ЕЛЕКТРОПРОВОДИМОСТ НА КЛЕТКИ И ТЪКАНИ ЗА ПРОМЕНЛИВ ТОК

§ 16.1. Основни величини при променливия ток

- *Моментни и ефективни стойности на големината на променливия ток и напрежението*

Най-общо променлив ток е *окси електричен ток*, който периодически изменя големината и посоката си, докато постоянният му запазва с времето. При периодичната промяна на посоката на тока всеки носител на електричен заряд променя своята посока на движение и извършва трептене. В зависимост от периодичния закон, по който токът се мени с времето, може да има много различни видове

променлив ток. Най-прост и най-разпространен е променливият ток i при хармонично трептене на електричните носители, описван със синусова или косинусова функция. Това се отнася и за променливото електрично напрежение u , което е причина за протичането на тока:

$$i = I_m \sin(\omega t + \varphi) ,$$

$$u = U_m \sin(\omega t + \varphi) .$$

Тук, както и при хармоничното трептене, I_m и U_m са максималните стойности, които получават съответните величини, $\omega = 2\pi\nu$ е кръговата честота, ν - линейната, $\omega t + \varphi$ е фазата, а φ - фазовата константа. Стойностите i и u , които токът и напрежението имат в различни моменти, се наричат *моментни стойности*. Те не могат да се измерват с електроизмервателните уреди, тъй като непрекъснато се менят с времето. Измерват се така наречените *ефективни стойности* на големината на тока I_{eff} и напрежението U_{eff} . Те се дефинират като стойности на тока и напрежението на такъв постоянен ток, който има мощност, равна на средната мощност на променливия ток за време, значително по-голямо от един период. Последното изискване е съществено, тъй като средните стойности на големината на тока и напрежението за един период са равни на нула. Ефективните стойности са свързани с максималните по следния начин:

$$I_{eff} = \frac{I_m}{\sqrt{2}} , \quad U_{eff} = \frac{U_m}{\sqrt{2}} .$$

• Видове съпротивления при променлив ток

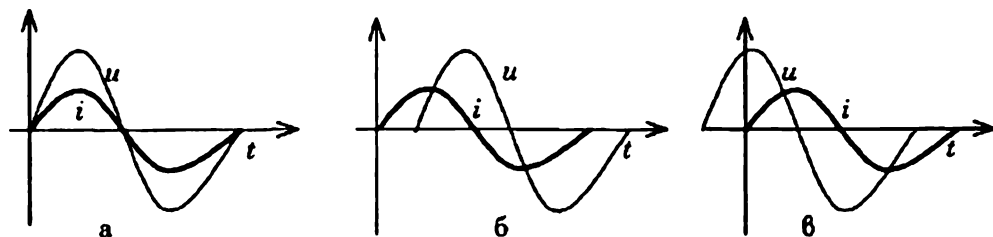
Съпротивлението R на обикновените проводници (метали или електролити) се нарича *активно*, тъй като в тях енергията на електричното поле се превръща в топлина. За променливотокова верига, съдържаща активно съпротивление (резистор), е валиден законът на Ом (15.2) и големината на тока и напрежението се менят синфазно във времето, т. е. имат еднакви фази (фиг. 16.1 а).

Протичането на променлив ток по електричните вериги има особености, които постоянният ток няма. Трептеливото дви-

жение на електричните заряди превръща един кондензатор с капацитет C в проводник с *капацитивно съпротивление*

$$X_C = \frac{1}{\omega C}. \quad (16.1)$$

В намотка с индуктивност L то индуцира електродвижещо напрежение, противоположно на приложеното. Действието му е анало-



Фиг. 16.1. Зависимости на големината на променливия ток i (—) и напрежението u (—) от времето t при активно (а), капацитивно (б) и индуктивно (в) съпротивление

гично на действието на едно допълнително съпротивление с големина

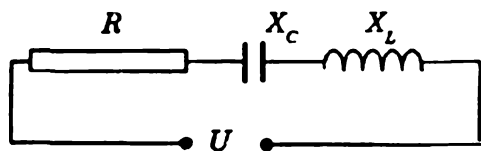
$$X_L = \omega L, \quad (16.2)$$

наречено *индуктивно съпротивление*. Активното съпротивление на намотката се пренебрегва, тъй като е много по-малко от нейното индуктивно съпротивление. И капацитивното, и индуктивното съпротивления се наричат *реактивни съпротивления*. Те се измерват в единицата ом, както активното съпротивление.

Във верига, която има само капацитивно съпротивление, големината на тока изпреварва по фаза напрежението с фазова разлика $\pi/2$ (фиг. 16.1 б). В случай, че съпротивлението е само индуктивно, големината на тока изостава по фаза от напрежението с $\pi/2$ (фиг. 16.1 в). Тези фазови разлики (наричани още *фазови отмествания*) са по-малки, ако веригите съдържат и омово (активно) съпротивление.

Отделните части на една електрична верига могат да имат както активно, така и реактивно съпротивление, но обикновено едното е значително по-голямо от другото. Общото съпротивление на една верига при протичане на променлив ток се нарича *пълно съпротивление на веригата или импеданс*. В случай на после-

гователно свързване на активно, капацитивно и индуктивно съпротивления (фиг. 16.2) импедансът Z е



Фиг.16.2. Верига от последователно свързани активно R , капацитивно X_c и индуктивно съпротивление X_L ,

$$Z = \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2},$$

а фазовото отместване φ на тока спрямо напрежението е

$$\operatorname{tg} \varphi = \frac{X_L - X_C}{R}.$$

След заместване на индуктивното и капацитивното съпротивления от (16.1) и (16.2) тези величини придобиват следния вид:

$$Z = \sqrt{R^2 + \left(\omega L - \frac{1}{\omega C}\right)^2}, \quad \operatorname{tg} \varphi = \frac{\omega L - \frac{1}{\omega C}}{R}. \quad (16.3)$$

Вижда се, че ако $X_L = X_C$, то $\operatorname{tg} \varphi = 0$ и $\varphi = 0$, т. е. въпреки наличието на индуктивно и капацитивно съпротивления в този случай във веригата не се получава фазова разлика между големината на тока и напрежението. Това състояние се нарича *електричен резонанс*, тъй като тогава импедансът има минимална стойност, равна на активното съпротивление.

• Мощност, трифазен променлив ток

При променливия ток се дефинират *ефективна* и *номинална мощност*. Ефективната P е произведение от ефективните стойности на големината на тока I , на напрежението U и косинуса от фазовата разлика:

$$P = IU \cos \varphi.$$

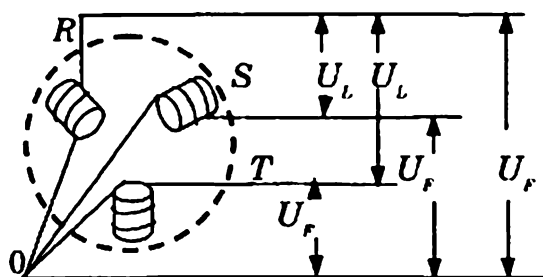
Множителят $\cos \varphi$ се нарича *коэффициент на мощността*, тъй като изменението му в интервала от 0 до 1 води до промени в мощността от 0 до максималната стойност $P_{\max} = IU$. Максималната мощност се нарича още *номинална* и се използва за характеризиране на устройства, които по време на работа променят фазовата разлика и за тях ефективната мощност няма постоянна стойност. *Електри-*

ческата енергия при променливия ток E е произведение от ефективната мощност и времето:

$$E = Pt = IUt \cos \varphi .$$

Прието е ефективната мощност да се измерва в единицата ват (W), а за номиналната да се използва единицата волтампер (VA). Това дава възможност означените единици да показват вида на мощността. Както всяка енергия, така и електрическата се измерва в единицата джаул (J), но в практиката се е наложила извънсистемната единица киловатчас (kWh).

Променливият ток обикновено се получава от генератори с



Фиг. 16.3. Намотки в трифазен генератор, свързани в звезда

три намотки в статора, разположени така, че осите им сключват ъгъл 120° ($2/3 \pi \text{ rad}$) една спрямо друга. Във всяка от тях се индуцира променлив ток, който се различава от тока в съседната намотка с фазова разлика 120° . Най-често всички намотки се

свързват с единия си край към общ проводник, наречен *нулев*, а другите им краища се свързват към проводници, наречени *фазови* (фиг. 16.3). Нулевият проводник се означава с 0, а фазовите - с буквите R, S, T. Този начин на свързване е известен като *свързване в звезда*.

Напрежението U_F между нулевия проводник и който и да е фазов се нарича фазово или еднофазно, а между два фазови проводника – линейно U_L . Всички фазови напрежения са равни помежду си и всички линейни напрежения - също. В нашата страна се използва фазово напрежение $U_F = 220 \text{ V}$. Линейното напрежение е 380 V , тъй като връзката между линейното и фазовото напрежение е $U_L = \sqrt{3} U_F$. Еднофазното напрежение се подава на потребителите с два проводника – нулевия и един фазов. За работата на трифазни потребители, каквито например са трифазните електромотори, са необходими и трите фазови напрежения, което изисква електрозахранване с четири проводника.

§ 16.2. Електропроводимост на клетки и тъкани за променлив ток

• *Импеданс на клетки и тъкани*

Намаляването на интензитета на електричното поле в диелектрик в резултат от поляризацията се определя от относителната му диелектрична проницаемост ϵ_r (вж. § 15.2). От тази величина зависи и големината на електричния капацитет C на кондензаторите. Например капацитетът на плосък кондензатор, съставен от две проводящи пластинки и диелектрик между тях, е

$$C = \frac{\epsilon_r S}{d} . \quad (16.4)$$

Тук S е площта на всяка пластинка, а d е разстоянието между тях.

Кондензаторите не пропускат постоянен ток, но за $M=0$ променлив ток те имат капацитивно съпротивление X_C , което зависи от C и съответно от ϵ_r . Високото съпротивление на клетките и тъканите за постоянния ток се обяснява с тяхната хетерогенна структура и с диелектричните свойства на мембраните. Тъй като това са причините за различните видове поляризация в електрично поле, може да се направи заключение, че биологичните обекти освен активно съпротивление имат и капацитивно. Няма основание и опитни данни, от които да следва, че те имат някакво индуктивно съпротивление и затова такова не се включва в техния импеданс.

Най-общо капацитивното съпротивление на клетката се обяснява чрез сравняване на нейния строеж с този на кондензатора. Липидната мембрана на клетката има същата функция като диелектрика на кондензатора, а проводящите среди от двете ѝ страни са аналози на неговите пластинки. За разлика от плоския кондензатор обаче капацитетът на клетките не може да се пресметне само като се изходи от площта, дебелината и диелектричната проницаемост на мембраните. Капацитетът, намерен по този начин, се нарича *статичен*. Той е много по-малък от капацитета, който се получава в тъканите в резултат от поляризацията, протичаща извън мембраните, наречен *поляризационен капацитет*.

Поляризаационният капацитет C_p не е постоянна величина, а зависи от напрежението и времето, през което протича токът. Той е най-голям при постоянен ток и при ток с ниска честота и за различни тъкани достига стойности от 0,1 до 10 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$. Високата му стойност е характерна за живите неувредени клетки. С повишаване на честотата C_p намалява и над 10 kHz става няколко порядъка по-малък от статичния C_s . Тъй като двата капацитета са свързани последователно, сумарният капацитет C при високи честоти се определя от по-малкия, т. е. от поляризаационния:

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_s} + \frac{1}{C_p} \approx \frac{1}{C_p}.$$

Електричните свойства на живите клетки се представят с различни електрични еквивалентни схеми, които са комбинации от резистори и кондензатори. В най-простите електрични модели те са свързани последователно или успоредно, но тези модели не са много точни. Импедансът при последователно свързване на активно и капацитивно съпротивление е

$$Z = \sqrt{R^2 + \frac{1}{\omega^2 C^2}}, \quad (16.5)$$

а при успоредно е

$$Z = \frac{1}{\sqrt{\frac{1}{R^2} + \omega^2 C^2}} = \frac{R}{\sqrt{1 + R^2 \omega^2 C^2}}. \quad (16.6)$$

• Дисперсия на диелектричната проницаемост

Както се вижда от изразите за импеданса при последователно и успоредно свързване на активно и капацитивно съпротивление (16.5) и (16.6), в двата случая импедансът намалява с увеличаване на честотата. За много високи честоти при последователно свързване той става равен на активното съпротивление, а при успоредно е равен на нула. Зависимостта на импеданса от честотата се нарича *дисперсия на импеданса*. Тази дисперсия се дължи не само на явното присъствие на честотата ($\omega = 2\pi\nu$) в Z , но и на зависимостта на поляризаационния капацитет C_p от нея, което е следствие от дисперсията на диелектричната проницаемост $\epsilon_r(\nu)$.

Дисперсията на диелектричната проникваемост се обяснява, като се сравняват релаксационните времена τ на видовете поляризация с времето, през което променливото електрично поле действа в една посока. Това време t' се определя от честотата ν и е равно на полупериода на променливия ток:

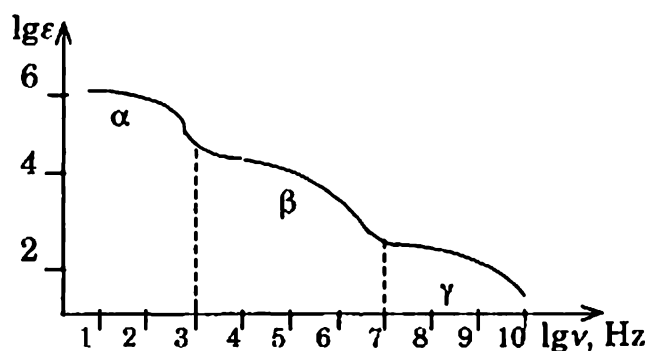
$$t' = \frac{T}{2} = \frac{1}{2\nu}.$$

Ако $t' > \tau$ за някой вид поляризация, то тя се извършва напълно и пробата се характеризира с някакви постоянни стойности на ϵ_r и електропроводимостта. Те не се менят с честотата, докато горното неравенство е изпълнено, но ако се достигне до честота, при която $t' < \tau$, този вид поляризация няма да може да се осъществи напълно. Това означава, че над тази честота ϵ_r ще започне да намалява, а електропроводимостта – да нараства. Това ще продължи до честота, при която разглежданият вид поляризация не е възможен изобщо и тогава ϵ_r ще има друга постоянна стойност. Тя ще се запази дотогава, докато е в сила неравенството $t' > \tau$ за друг вид поляризация с по-малко време на релаксация. С увеличаването на честотата може да се стигне до ново намаляване и нова постоянна стойност на ϵ_r и т. н.

Кривите на дисперсията на диелектричната проникваемост за различни тъкани са твърде подобни помежду си. Това се дължи на единния строеж и химичен състав на клетките. Конкретните особености на тъканите, като размери и форма на клетките, проникваемост на мембраните, обем на междуклетъчните пространства, водно съдържание, концентрация на йони и др., се отразяват върху вида на честотните зависимости. На фиг. 16.4 е представена *зависимостта $\epsilon_r(\nu)$ за мускулна тъкан*. В нея се отделят три области на дисперсия, означавани като α -, β - и γ - дисперсия.

α - дисперсията е най-нискочестотната област от дисперсията на диелектричната проникваемост, обхващаща звуковия диапазон до около 1 kHz. На тази честота отговаря полупериод $t' = 10^{-3}$ s, което означава, че за това време се осъществяват всички видове поляризация с време на релаксация $\tau > t'$. Променливият ток с такава

честота протича предимно през междуклетъчната течност. Извършва се и електродна поляризация и това трябва да се има предвид при провеждане на измервания с поляризуеми електроди.



Фиг. 16.4. Дисперсия на диелектричната проницаемост

С повишаване на честотата над 1 kHz вече не е възможно да се получава *повърхностна поляризация* и приносът ѝ в общата поляризация отпада. Това се изразява в рязко намаляване на диелектричната проницаемост. Дисперсията

има подобен вид не само при диспергирани частици, ограничени с мембрани, но и при плътни (хомогенни) частици като стъклени и полистиролови перли, маслени капки и др. Това е убедително доказателство, че α -дисперсията е свързана с повърхностните свойства на частиците.

β -дисперсията обхваща честотната област 1 kHz – 10 MHz, която дава възможност за проявяване на диелектрична поляризация с време на релаксация $\tau > 10^{-7} - 10^{-3}$ s. В тази област електропроводимостта на клетката преобладава над проводимостта на междуклетъчната течност. Това се дължи на макроструктурната поляризация, обусловена не само от клетъчната мембрана, но и от мембраните в цитоплазмата на цялата клетка. С нарастването на честотата намалява времето за протичане на тока в една посока и преразпределението на йоните в макроструктурите, поляризацията и диелектричната проницаемост на тъканите също намаляват.

Електричните свойства на биологичните системи в областта на β -дисперсията обаче не могат да се обяснят напълно само с макроструктурната поляризация. При нея не се отчита проницаемостта на мембраните и големината на пасивните и активните йонни потоци. С такава цел е разработена по-съвършена *електрохимична теория*, в която макроструктурната поляризация се допълва с електродна. Тази теория е основана на аналогията между

преапределението на йоните на разделителните повърхности метал/разтвор и в границите на макроструктурен обем от биологичен обект. Аналог на електрохимичните реакции, протичащи на електродите, е преминаването на йони през мембраните, а аналог на тока през повърхността на електрода е йонният ток през мембраната. Приложимостта на електрохимичната теория е доказана експериментално.

γ - дисперсията включва намаляването на диелектричната проницаемост при честоти над 1 GHz. Това намаляване се обяснява добре с отслабването на ефекта от ориентационната поляризация на водните диполи. Големината му зависи от съдържанието на свободна вода и затова електричните параметри на тъкани, съдържащи малко вода, като например мастни и костни тъкани, са практически честотно независими в микровълновия диапазон.

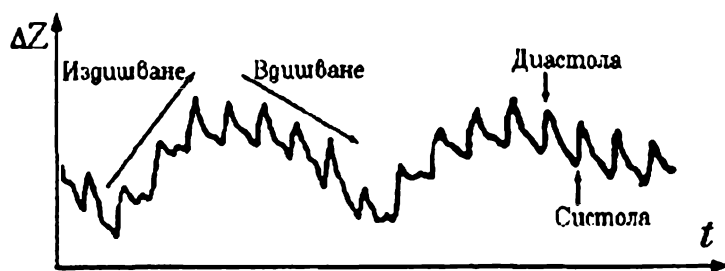
Сравнително малък принос към γ - дисперсията има поляризацията на хидратните обвивки на макромолекулите, т. е. на свързаната към тях вода, а също и поляризацията на техните полярни групи. Ориентационната поляризация на белтъчните и други органични молекули с диполен момент дава слаб допълнителен ефект, но той е върху β - дисперсията. Диполната поляризация на молекулите на водата отпада при свръхвисоки честоти (над 10 GHz) и диелектричната проницаемост придобива малки стойности. Те се определят само от наличието на йонна и електронна поляризация, за които е необходимо най-малко време на релаксация.

§ 16.3. Физиологични и патологични промени в електропроводимостта на биологичните тъкани

От всички тъкани най-малък специфичен импеданс има кръвта, тъй като концентрацията на йони в нея е най-висока. Колкото кръвонапълването на някоя тъкан е по-голямо, толкова нейният импеданс е по-малък. Кръвонапълването на части и органи на човешкото тяло се мени периодично, главно във връзка със сърдечната и дихателната дейност. Методът за регистрация на кръвонапълването се нарича общо *реография*, а ако това става чрез измерване на импеданса – *импедансна плетизмография*. Той се използва за диагностични изследвания при някои нарушения в кръвоснабдяването.

Тъканният импеданс се измерва с два електрода, свързани към измерителна мостова схема. Обикновено постоянната съставка

на импеданса се компенсира, а се изследват само вариациите му под действие на сърдечната и дишателната дейност (фиг. 16.5).



Фиг. 16.5. Импедансна плетизмограма

е приложима за всички части на тялото, включително и за кръвопътването на мозъка. Този вариант на метода се нарича *реоенцефалография*.

Електричните свойства на тъканите се изменят и под действие на различни увреждащи фактори, при нарушения в техните жизнени процеси и при смърт. Тогава проникваемостта на клетъчните мембрани нараства и йонните потоци през тях се увеличават. Това отслабва повърхностната и макроструктурната поляризация и намалява активното и капацитивното съпротивление на тъканите при ниски и средни честоти. Поляризацията при високи честоти е значително по-слаба и практически не променя импеданса. Следователно дисперсията на импеданса, наблюдавана при жизнеспособни тъкани (фиг. 16.4), не е характерна за увредени и липсва при мъртви тъкани. Тези различия в импеданса се използват за *количествена оценка на виталността на тъкани*. Тя е особено важна например за органи, предназначени за трансплантация. За критерий може да се вземе коефициентът на поляризация, който се намира като отношение на импеданса на тъканите при ниски и високи честоти. При мъртви тъкани този коефициент е единица.

Измерването на електричните параметри на тъканите може да се използва и за *диагностика на възпалителни заболявания*. Възпалението протича първоначално с увеличаване на обема на клетките и води до намаляване обема на междуклетъчните пространства. Това е причина да нараства активното съпротивление, без да се променя капацитивното. По-късно възпалителният процес

предизвиква промени в мембраните, увеличава тяхната проницаемост и намалява капацитивното съпротивление на тъканите.

Високочестотни променливи токове с честоти от няколко MHz до няколко GHz не предизвикват гразнене и се използват за *електролечение*. То се основава главно на топлинния ефект, който зависи както от физичните характеристики на въздействието, така и от диелектричната проницаемост и импеданса на тъканите. Максимален ефект се получава при най-голямата степен на поляризация във всяка от трите области на дисперсията.

Установяването на различия в електропроводимостта на кожата е в основата и на *други приложения във физиотерапията*. От древнoизточната медицина е възприет методът за лечение на редица заболявания чрез иглоубождане (акупунктура). Наред с него сега се прилагат масаж и притискане (акупресура), електропунктура, фотостимулация, лазерна пунктура, локално въздействие с ултразвук и др. методи за въздействие върху определени точки от кожата и подлежащите им тъкани. В тези точки някои физични величини имат по-различни стойности от съответните им в съседните участъци. Това е резултат от повишена биологична активност на тези места, поради което те са наречени биологичноактивни точки. Установено е, че те имат по-висока температура, по-висок електричен потенциал и капацитет, по-висока електропроводимост и др. Един от методите за *откриване на биологичноактивни точки* е локално измерване на електричното съпротивление на кожата.

Електричното съпротивление на кожата на човек може да се мени и в зависимост от психичното му състояние, особено ако се съпровожда с изпотяване и засилено кръвоснабдяване. Промяната се установява обективно чрез измерване с подходяща апаратура, наричана в криминалистиката *детектор на лъжата*.

§ 16.4. Физични принципи на електробезопасността

Когато човешкото тяло попадне под електрично напрежение, през него протича ток, който над определени стойности уврежда тъкани и органи и предизвиква смърт. Счита се, че *пораженията при електричен удар се определят от големината на преминалия електричен ток*, а не от стойностите на приложеното напрежение.

Големината на тока I , преминал през някоя област от тялото, зависи от приложеното напрежение U и съпротивлението на тази област (между точките на включване) по закона на Ом. Това съпротивление се състои от съпротивлението на вътрешните части на тялото и съпротивлението на кожата. Първото от тях не зависи от общото състояние на човека и е от порядъка на килоомове. Второто е значително по-голямо и съществено зависи от вътрешни и външни причини - главно от дебелината и влажността на кожата. Прието е кожното съпротивление да се пренебрегва от съображения за безопасност, тъй като то се мени в широки граници. Съпротивлението за постоянен ток между двете ръце ("сърдечна дъга") е около $1\text{ k}\Omega$, а съпротивлението на човешкото тяло от главите до стъпалата е най-много $4 - 5\text{ k}\Omega$. При променлив ток импедансът е по-голям от активното съпротивление, тъй като капацитетът на тялото, свързан последователно, е $C \ll 1\text{ F}$, а честотата на тока в електрическата мрежа $\nu = 50\text{ Hz}$ също не е голяма.

Много голяма част от нещастните случаи стават, когато контактът между части от тялото и проводниците под напрежение не е много добър. Това означава, че към съпротивлението на тялото R (между контактните места) трябва да се прибави и общото контактно съпротивление R_r между тези места и проводниците или земята. Тогава токът, преминал през тялото, е

$$I = \frac{U}{R + R_r}.$$

Електричен ток с големина 25 mA , преминал през тялото и особено през сърцето, може да бъде смъртоносен. При малко контактно съпротивление R_r такъв ток се получава от постоянно напрежение $U \approx 0,025 (1000 - 5000) \approx 25 - 125\text{ V}$. Това може да се случи например когато човек е бос на влажна почва и с потна ръка е хванал проводник под напрежение. Ако R_r е голямо, а напрежението е достатъчно, за да протече значителен ток, контактните места от тялото се заеряват силно и могат да се получат изгаряния. В случая има значение плътността на тока и е възможно сравнително слаб ток да предизвика изгаряния, ако площта на контактните места е малка.

Най-чувствителните органи към действието на електричния ток са главният мозък, гръбначният мозък и сърцето. Тежестта на предизвиканите върху тях поражения зависи от разстоянието им до контактните места. Смъртта от електричен удар обикновено настъпва поради спиране на сърцето или дишането. Спирането на сърцето е резултат от фибрилация на камерите при протичането на силен ток. Фибрилацията е неедновременно съкращение на мускулните влакна в някоя част на сърцето (камера, предсърдие), в която нормално те се съкращават едновременно. Вследствие на това нейните функции да придвижва кръвта в съдовете се нарушават. Ако не се вземат мерки за прекратяването ѝ, фибрилацията е смъртоносна. При електричен удар сърцето може да спре и поради гразнене на блуждаещия нерв, на сърдечносъдовите центрове или поради рязко свиване на коронарните съдове. Спирането на дишането може да се дължи на прякото въздействие на тока върху дишателния център или поради хипоксия на клетките на този център, предизвикана от спирането на сърцето или от рязкото свиване на хранещите го кръвоносни съдове.

Основно изискване за осигуряването на електробезопасност при работа с електрически уреди и апарати е добрата изолация и недостъпността до онези техни части, които са под напрежение. Това обаче е необходимо, но недостатъчно условие за пълна безопасност по две причини. Първо, съпротивленията между вътрешните части на един апарат, между тях и корпуса му, между корпуса му и земята не са безкрайно големи за променливия ток, независимо от изолацията между тях. При допир до корпуса през тялото на човека винаги протича някакъв ток, наречен ток на утечка (изтичане). Второ, поради повреда (откачване на проводник, остаряла изолация) или голяма влажност на въздуха може да се получи късо съединение между някоя вътрешна част и корпуса. Тогава той ще се окаже под напрежение (пробив на корпуса).

Основни защитни мерки срещу електричен удар при пробив на корпуса са заземяването и зануляването на корпуса. Под *заземяване* се разбира свързването на едно тяло чрез проводник към земята, която има потенциал нула. Електричните заряди, натрупвани върху изолираните от земята тела, през проводника преминават в

земята и се неутрализират. Най-лесното за изпълнение заземяване е свързването към тръби на водопроводната или топлофикационната мрежа, които фактически са заземени. В някои случаи е необходимо специално заземяване, при което се осигурява по-добър контакт с почвата чрез заравняне на достатъчно големи метални листове на достатъчно голяма дълбочина (желателно до подпочвените води). Съпротивлението на заземяващия проводник е много по-малко от съпротивлението на човека и е свързано успоредно с него. Следователно през човека протича незначителен ток в сравнение с тока през заземяващия проводник.

Защитното заземяване е слабо ефективно в съвременната трифазна електрификационна мрежа със заземен нулев проводник. При пробив на корпуса съпротивлението на заземяването на корпуса и съпротивлението на заземяването на нулевия проводник се оказват успоредно свързани и напрежението се разпределя между тях. Това е опасно за човека, тъй като поради по-слабия ток предпазителят може да не се изключи. Ако корпусът не е заземен, а е свързан към заземен нулев проводник, пробивът на корпуса ще предизвика късо съединение и предпазителят ще изключи апарата от мрежата. Такова свързване се нарича *зануляване*. Ако се използва само един предпазител, той задължително трябва да се намира във веригата на фазовия проводник. В противен случай апаратът остава под напрежение.

За избягване на нещастни случаи при работа с електроуреди трябва да се спазват следните *общи правила за електробезопасност*:

- да не се докосват електроуредите едновременно с двете воли ръце или с незащитени части на тялото;
- да не се стои на влажен под или на земята без обувки с изолиращи подметки или без такива подложки;
- да не се докосват тръби за вода, топлофикация, газ и др., както и части на метални строителни конструкции;
- да не се докосват едновременно корпусите на два електроуред, тъй като може да са включени към различни фази.

§ 17. ПАСИВНИ МЕХАНИЧНИ СВОЙСТВА НА БИОЛОГИЧНИТЕ ТЪКАНИ

§ 17.1. Предмет и значение на биомеханиката

Биомеханиката е най-старият дял на биофизиката. *Предметът* ѝ е изследване на механичните явления и техните закономерности в биологични системи и реакцията на тези системи на външни механични въздействия. В последните години биомеханиката се насочва главно към изследвания, свързани с *проблеми на медицината* – например в бързо развиващата се област хемореология и върху биоматериали за целите на медицинската техника. Механичната устойчивост на човешкото тяло, органите и тъканите придобива все по-голямо значение за спортната и космическата медицина, хигиената и професионалните заболявания, съдебната медицина, ортопедията и травматологията.

Механичните процеси са едни от най-важните за живите организми и те протичат на различни нива на организация – от целия организъм до клетката и субклетъчните структури. Биомеханичните явления са много разнообразни и включват например функционирането на опорно-двигателната система, деформациите на тъкани и клетки, разпространението на вълни на еластична деформация (пулсова вълна), мускулното съкращение, движението на биологични течности и на белодробния газ.

Механичните свойства на биологичните тъкани са два вида. Едните са свързани с *биологичната подвижност*: мускулното съкращение, растежът на клетките, движението на хромозомите в клетките при тяхното делене, движението на едноклетъчните и на отделни клетки с помощта на реснички и опашки, механорецепцията, механо-химичните процеси в мембраната и др. Тези процеси

протичат под действието на съкратителни белтъци, при което се използва химичната енергия от хидролизата на АТФ. Те се отнасят към *активните механични свойства* на биологичните системи.

Другият вид механични свойства са *пасивните*. Проявяват се при действие на външна сила и зависят не само от строежа на тъканите, но и от големината на действащата сила. Биологичните тъкани са съставени от различни компоненти и техните механични свойства се различават от тези на всеки отделен компонент. Методите за изследване на пасивните механични свойства на биологичните тъкани са аналогични на методите, с които се изследват деформациите на материали в техниката. По аналогия на термина технически материали е въведен и терминът биологични материали.

Биологичните материали се разделят условно на твърди (кости, мускули, кожа, кръвоносни съдове и др.) и течни (кръв, синовиална течност, протоплазма и др.). Това се прави само за удобство на разглеждането, тъй като биологичните структури не са хомогенни, а имат колоиден характер. Освен това те съдържат много вода и не е възможно да се определи точно агрегатното състояние на някой биоматериал като твърдо или течно.

§ 17.2. Реология на твърдите биоматериали

Опази част от механиката, която изучава деформируемостта на твърдите тела и свойството на газовете и течностите да текат, се нарича *реология* (от гръцката дума реос - ток, течение). Основна зависимост в реологията е връзката между действащата сила и предизвиканата от нея реакция на тялото. При твърдите тела тази зависимост е законът на Хук (R. Hooke) за деформацията:

$$\sigma = E\varepsilon \quad , \quad (17.1)$$

а при течностите - законът на Нютон (I. Newton) за вътрешното триене:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad . \quad (17.2)$$

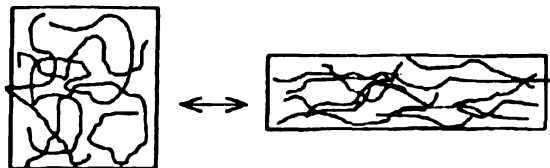
В тях σ и τ са съответно нормалното и тангенциалното механично напрежение, дефинирани като отношение на действащата сила F и

площта S . E е модулът на еластичност при опъване, $\epsilon = \frac{\Delta l}{l_0}$ - относителната деформация, η - коефициентът на вътрешно триене, а $\gamma = \frac{dv}{dx}$ е градиентът на скоростта.

Едно твърдо тяло се различава от течност по това, че има определена форма и запазва тази форма, когато му действат пренебрежими по големина сили. В противен случай силите предизвикват изменения на формата и размерите му (наречени *деформации*), при което те се уравновесяват от вътрешните еластични сили. При деформациите на твърдите биоматериали, както и на твърдите тела, се изпълнява условието за постоянство на обема поради несвищаемостта на главния им компонент – водата. Това условие се нарушава, когато органи съдържат газ (бял дроб), когато при деформацията от тях се отделя вода или причина за деформацията е моза.

• Вискоеластичност

Между еластичните свойства на кристалните тела и полимерните материали има принципна и много голяма разлика. Например относителната деформация при границата на издръжливост (якост) на опъване е 0,3 % за стоманата, а 300 %. - за каучука. Това се дължи на различния механизъм на еластичността. Докато при кристалите тя се определя от постоянството на междоатомните разстояния, частите на много дългите еластични молекули на полимерите се намират в непрекъснато топлинно движение. То про-



Фиг. 17.1. Схема на молекулния механизъм на каучукоподобната еластичност

меня формата и дължината на молекулите им, но във всеки момент дължината на недеформираното тяло се определя от тяхната най-вероятна дължина. Опъването из-
 правя формата им в съ-

ответната посока и дължината на цялото тяло се увеличава (фиг. 17.1). След премахване на натоварването дължината на всяка молекула се възстановява под действие на топлинното движение и тя-

лото се скъсява. Еластичността на полимерите се нарича *каучукоподобна или ентропийна*, тъй като енергията на деформацията предизвиква намаляване на ентропията на макромолекулите.

Разликата между деформациите на кристалите и полимерите се проявява и в *зависимостта на деформацията от времето* $\epsilon = f(t)$, наречена *крива на изтегливост*. Практически всички материали имат свойството изтегливост. Това означава, че те продължават да се деформират и когато действащата им сила остане постоянна. Изпъването на макромолекулите в полимерите и триенето между тях продължава по-дълго време от изтегливостта на металите. Изтегливостта на полимера донякъде прилича на процеса течение на вискозна течност. Съчетанието на вискозно течение с еластичност, проявяващо се при деформацията на полимерите, дава основание този вид деформация да бъде наречена *вискозоеластична* или накратко – *вискоеластична деформация*. Деформациите на биологични структури като мускули, сухожилия, кожа, кръвоносни съдове, белодробна тъкан и др. са вискоеластични.

• *Механични модели в реологията*

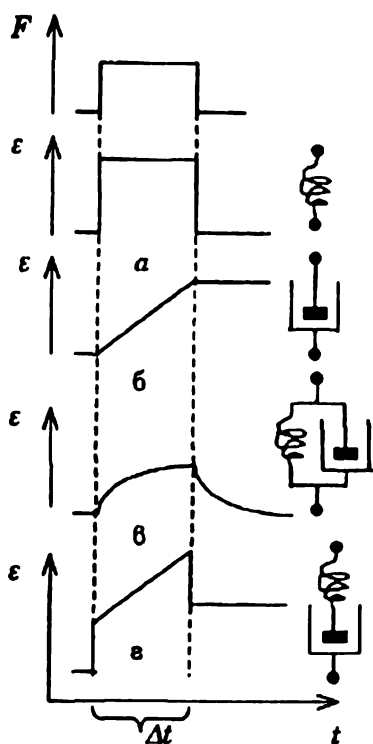
Механичните свойства на биологичните обекти могат да се представят нагледно чрез *механични модели* на еластичните и на вискозните свойства на телата. За модел на еластичните свойства се използва спирална пружина, чиято деформация се подчинява на закона на Хук. Вискозните свойства се моделират с преместването на бутало, потопено в цилиндър с вискозна течност. Механичното напрежение на вискозния елемент σ не зависи от големината на относителната деформация ϵ (както при еластичния елемент), а зависи от изменението ѝ с времето $\frac{d\epsilon}{dt}$ (скоростта на преместване

на буталото) и от вискозитета на средата η : $\sigma = \eta \frac{d\epsilon}{dt}$. Виско-

еластичните свойства на различни биологични тъкани се моделират чрез системи, съставени от различни комбинации на двата прости модела – пружина и бутало.

Да разгледаме *кривата на изтегливост* $\epsilon = f(t)$ в случай на постоянна външна сила F , действаща определено време Δt върху те-

ла с различни механични свойства. При прилагане на силата идеалното еластично тяло веднага се разтяга съгласно закона на Хук и веднага след прекратяване на действието ѝ възстановява първоначалната си дължина (фиг. 17.2 а). Пластичното (вискозното) тяло се деформира непрекъснато, докато действа силата и деформацията зависи от вискозитета му и от времето на действие на силата. С прекратяване на нейното действие тялото запазва достигнатата форма, "втвърдява се" (фиг. 17.2 б).



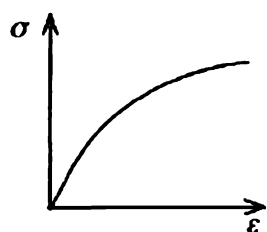
Фиг. 17.2. Криви на изтегливост, получени при различни механични модели под действие на постоянна сила F през време Δt

Комбинацията от успоредно свързани пружина и бутало, наречена *тяло на Фойгт (Voigt)*, се разтяга и свица (релаксира) по експоненциални криви (фиг. 17.2 в). Тялото има максимална деформация в края на действието на силата и тя се определя от модула на еластичност на пружината E . След това деформацията напълно изчезва, като времето зависи и от E , и от η . *Тялото на Максвел (J. Maxwell)*, съставено от последователно свързани еластичен и вискозен елемент, за разлика от тялото на Фойгт може да се удължава непрекъснато, колкото и дълго да действа силата (фиг. 17.2 г), след което се наблюдава остатъчна деформация, обусловена от вискозния елемент.

§ 17.3. Вискоеластични свойства на костите и мускулите

По механични свойства костите се отличават рязко от мускулите и другите биологични структури, което съответства на техните опорни и защитни функции. Около две трети от масата на компактната костна тъкан се състои от минерално вещество –

хидроксипатит $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$. Неговите микрокристали са разположени между нишките на фибриларния белтък колазен, който има голям модул на еластичност ($E \sim 10^7 \text{ Pa}$) и се деформира сравнително малко. Тази структура придава на костите твърдост, еластичност и здравина.

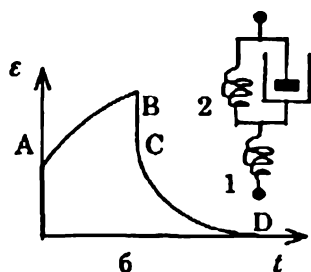
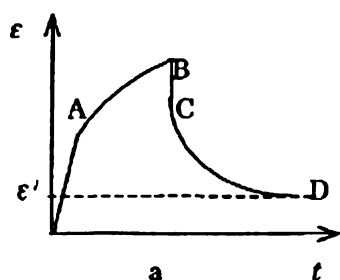


Фиг. 17.3. Крива на опъване при костна тъкан

Кривата на деформация при опъване $\sigma = f(\epsilon)$ на компактната костна тъкан е подобна на тази за твърдо тяло, но законът на Хук е изпълнен само при неголеми натоварвания (фиг. 17.3). Тогава напрежението е пропорционално на относителната деформация и модулът на еластичност е постоянен. Той е около 10^{10} Pa , а границата на издържливост (якост) е 10^8 Pa .

Кривата на изтегливост $\epsilon = f(t)$ се състои от четири участъка (фиг. 17.4 а). Първият (до т. А) е бързо разтягане, вторият (АВ) – изтегливост. Прекратяването на натоварването в т. В предизвиква бързо свиване, последвано от обратна изтегливост (CD). Дълго време след това костта не може да възстанови първоначалната си дължина – налице е остатъчна деформация ϵ' . Схематично този вид на кривата може да бъде получен с механичен модел, съставен от еластичен елемент (пружина), свързан последователно към тяло на Фойгт (фиг. 17.4 б). Натоварването бързо разтяга пружината 1, след което по експоненциална крива се разтяга и тялото на Фойгт. С премахването на товара бързо се свива пружината 1, а след това буталото се връща в първоначалното си положение под действие на пружината 2. Моделът обаче не възпроизвежда остатъчната деформация на компактната костна тъкан. Сравнението на кривите позволява да се направи аналогия между компонентите на костната тъкан и на модела. Може да се приеме, че бързата деформация на

Кривата на изтегливост $\epsilon = f(t)$ се състои от четири участъка (фиг. 17.4 а). Първият (до т. А) е бързо разтягане, вторият (АВ) – изтегливост. Прекратяването на натоварването в т. В предизвиква бързо свиване, последвано от обратна изтегливост (CD). Дълго време след това костта не може да възстанови първоначалната си дължина – налице е остатъчна деформация ϵ' . Схематично този вид на кривата може да бъде получен с механичен модел, съставен от еластичен елемент (пружина), свързан последователно към тяло на Фойгт (фиг. 17.4 б). Натоварването бързо разтяга пружината 1, след което по експоненциална крива се разтяга и тялото на Фойгт. С премахването на товара бързо се свива пружината 1, а след това буталото се връща в първоначалното си положение под действие на пружината 2. Моделът обаче не възпроизвежда остатъчната деформация на компактната костна тъкан. Сравнението на кривите позволява да се направи аналогия между компонентите на костната тъкан и на модела. Може да се приеме, че бързата деформация на



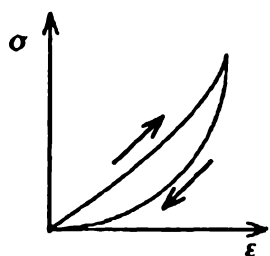
Фиг. 17.4. Крива на изтегливост за костна тъкан (а) и за модел (б)

свързан последователно към тяло на Фойгт (фиг. 17.4 б). Натоварването бързо разтяга пружината 1, след което по експоненциална крива се разтяга и тялото на Фойгт. С премахването на товара бързо се свива пружината 1, а след това буталото се връща в първоначалното си положение под действие на пружината 2. Моделът обаче не възпроизвежда остатъчната деформация на компактната костна тъкан. Сравнението на кривите позволява да се направи аналогия между компонентите на костната тъкан и на модела. Може да се приеме, че бързата деформация на

костта се дължи на минералното ѝ съдържание, а нейната изтегливост - на колагена.

Установено е, че при огъване на кост се получава *пиезоелектричен ефект*. От двете страни на огънатата костна пластинка възниква потенциална разлика, като въдлъбнатата страна се зарежда отрицателно. Потенциалната разлика е пропорционална на механичното напрежение в границите на еластичната деформация. Предполага се, че това интересно явление се получава при натоварване на костите и в живите организми, а също така, че то може да стимулира растежа на костите и заздравяването им при травми.

Пасивните механични свойства на мускулите се определят от съединителната тъкан, съставена главно от белтъците *еластин* и *колаген* и техни комплекси. Те влизат в състава и на други тъкани, които постоянно са подложени на механично натоварване – бял дроб, стени на кръвоносни съдове и др. В сравнение с колагена еластиновите нишки имат по-малък модул на еластичност при опъване ($E \sim 10^6$ Pa), но се деформират значително. Счита се, че еластиновите нишки в тъканите са под напрежение при умерено опъване, докато колагеновите – само при силно натоварване. В такива случаи колагеновите нишки предотвратяват скъсването на сухожилия, стени на кръвоносни съдове и други тъкани, а в белия дроб осигуряват тъканна стабилизация на алвеолите при големи обеми.



Фиг. 17.5. Крива на опъване и хистерезис при скелетен мускул

Кривата на опъване на *скелетните мускули* няма линейна част и модулът на еластичност нараства с увеличаване на деформацията (фиг. 17.5). Освен това при разтоварване се получава крива, която не съвпада с кривата на опъване, т. е. налице е добре изразен *хистерезис*. Това поведение на скелетните мускули се дължи на техните вискоеластични свойства и съответства на механичния модел, разгледан при деформация на кости (фиг. 17.4 б).

За разлика от скелетните, *гладките мускули* се разтягат подобно на тялото на Максвел. Напрежението в еластичния елемент, възникнало под действие на опъващата сила, постепенно намалява и изчезва поради необратимата деформация на вискозния

(пружината се отпусна, тъй като буталото се изтегля). По този начин гладките мускули се разтягат значително без особено напрежение, което дава възможност на кухи органи (стомах, матка, пикочен мехур) да увеличават много обема си.

§ 17.4. Пасивни механични свойства на кръвоносните съдове

Освен от свойствата на еластична и колагена механичните свойства на стените на кръвоносните съдове (съдовата тъкан) се определят и от *гладките мускулни влакна* в тях. Съдържанието на тези компонентни се променя с отдалечаването на съдовите от сърцето, като частта на гладките мускулни влакна нараства. Стените на всички кръвоносни съдове, с изключение на капилярите, имат вискоеластични свойства.

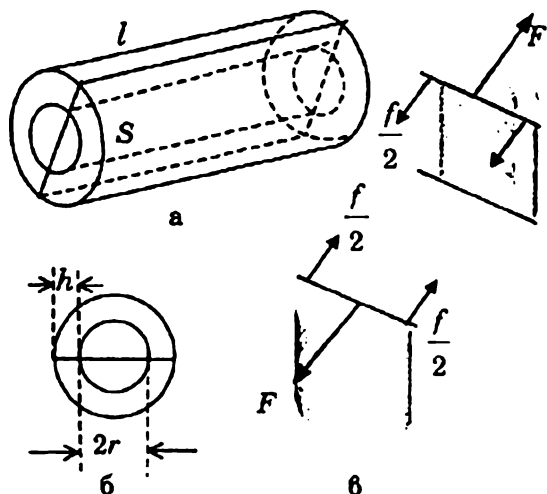
Съдовата тъкан има различни механични свойства при нагължна (по посока на дължината на съдовете) и тангенциална деформация (напречно на съдовете). Деформацията на съда като цяло се разглежда аналогично на деформацията на еластичен цилиндър под действието на положително вътрешно налягане. Тогава се изменя главно напречното сечение (лумена) на съда, а дължината му се приема за постоянна. Така се получава и при протичане на кръвта в кръвоносната система на жив организъм.

• Уравнение на Ламе

Разликата в налягането между вътрешната и външната повърхност на стените на съда се нарича *трансмурално налягане*. Почти винаги външното налягане на тъканите върху съдовете е малко и трансмуралното налягане практически е равно на вътресъдовото p . Да разгледаме силите, които действат върху част от цилиндричен съд с дължина l , вътрешен радиус r и дебелина на стената h (фиг. 17.6). Ако по оста му прекараме равнина, тя го разделя на две симетрични половини. Двете половини са подложени на действието на две еднакви сили F , обусловени от налягането p и насочени в противоположни посоки. Големината на F се определя лесно, ако се приеме, че действията на нагължното сечение на съда е с площ $S = 2rl$:

$$F = p \, 2rl .$$

На тези сили противодействат еластичните сили f в двете нагължни сечения на стените (с обща площ $2hl$), обусловени от механичното напрежение σ и насочени перпендикулярно на нагължното сечение:



Фиг. 17.6. Нагължно (а) и напречно сечение (б) на цилиндричен еластичен съд и силите, които действат на двете му половини (в)

нагължното сечение:

$$f = \sigma 2hl.$$

От условието за уравновесяване на силите $F = f$ се намира зависимостта на механичното напрежение в съдовете от налягането в тях, от радиуса и дебелината на стените им, известна като *уравнение на Ламе*:

$$\sigma = \frac{pr}{h}. \quad (17.3)$$

От уравнението следва, че при постоянно налягане механичното напрежение в стената на един кръвоносен съд намалява с намаляване на неговия радиус и с увеличаване на дебелината на стената му. От средни данни за трансмуралното налягане и за радиусите на кръвоносните съдове може да се пресметне, че при една и съща дебелина на стените механичното напрежение в капилярите ще бъде около 10^4 пъти по-ниско, отколкото в аортата и около 10^3 пъти по-ниско, отколкото в кухата вена. Ниското напрежение в стените на капилярите, макар и изградени от един слой клетки, е причина те да не се разкъсват под действие на трансмуралното налягане.

• Зависимост налягане/обем

Показател за еластичните свойства на кухо тяло е величината *обемна капацитет (къмплайънс) C*, която е отношение на изменението на затворения от него обем (обем на кухината) ΔV към промяната на налягането Δp в него:

$$C = \frac{\Delta V}{\Delta p}. \quad (17.4)$$

Вижда се, че обемният капацитет на едно кухо тяло е нула ($C = 0$), ако при промяна на налягането върху стените му то не се деформира ($\Delta V = 0$). Обемната деформация ΔV зависи не само от C , но и от началния обем на кухината V_0 . Така например ΔV и C са по-големи при тяло с по-деформируеми стени и с по-голяма кухина. За характеризиране на еластичните свойства на *стените* на кухото тяло се въвежда величината *разтегливост* (специфичен *къмплайънс*) C_0 - отношение на обемния капацитет към началния обем V_0 :

$$C_0 = \frac{C}{V_0} = \frac{1}{\Delta p} \frac{\Delta V}{V_0} . \quad (17.5)$$

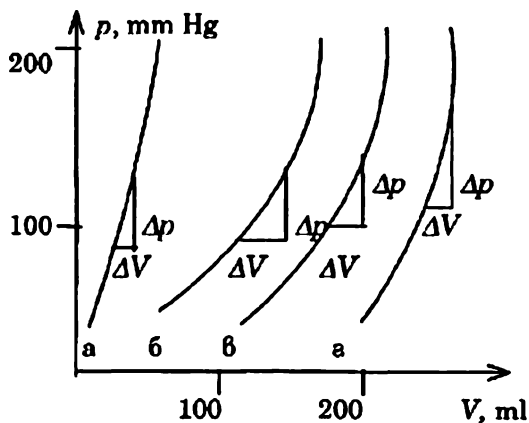
Този израз, преписан във вида

$$\Delta p = \frac{1}{C_0} \frac{\Delta V}{V_0} ,$$

е аналогичен на закона на Хук за линейна деформация (17.1). Сравнението с него показва, че разтегливостта C_0 има смисъл на *реципрочна стойност на модул на обемната еластичност*.

Обемният капацитет

C има постоянна стойност при идеално еластично тяло. В противен случай той се менни и може да се определи от зависимостта между налягането и обема. Такива криви налягане/обем за изолирана човешка аорта при различни възрастови групи са показани на фиг. 17.7. От изменението на обема ΔV , получено при повишаване на налягането Δp по време на систола, се определя обемният капацитет C и из-



Фиг. 17.7. Криви налягане/обем и обемна капацитет за изолирана аорта в зависимост от възрастта: а) 10 г., б) 16 – 39 г., в) 40 – 59 г., г) 60 – 83 г.

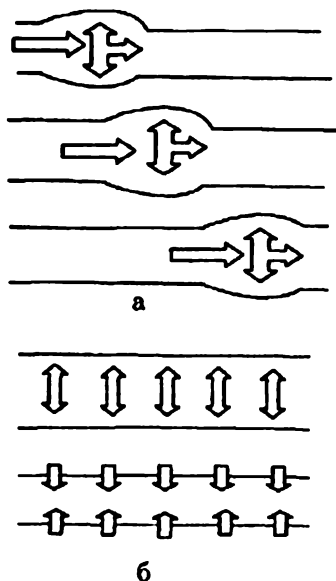
менението му в зависимост от възрастта.

В млада възраст, докато организъмът расте, C нараства за сметка на увеличаването на обема на аортата (фиг. 17.7, криви а, б). Освен това аортата става по-податлива на разтягане, тъй ка-

то, съгласно уравнението на Ламе, с нарастване на радиуса налягането за създаване на определено механично напрежение в стените на съда намалява. В по-зряла възраст обемът на аортата продължава да расте поради намаляване на еластичността и отпускане на тъканите. С напредване на възрастта, когато артериалното налягане започва да се повишава и неговото изменение попада в по-стръмната част на кривите, и разтегливостта, и обемният капацитет започват да намаляват (фиг. 17.7, криви в, г). В резултат на това намалява и амортизиращият ефект на стените на съдовете върху периодичните систолични вълни в кръвотока.

• Пулсова вълна

При систола сърцето изтласква кръвта от лявата камера в аортата и излизащите от нея артерии. Налягането върху стените



Фиг. 17.8. Схема на разпространението на систоличното налягане (а) и реална форма на съдовете при систола и диастола (б)

на аортата близо до сърцето се увеличава и този участък от нея се разтяга, докато механичното напрежение в стените му σ_1 не уравновеси налягането. Тъй като в този участък напрежението е станало по-голямо, отколкото в следващия ($\sigma_1 > \sigma_2 > \sigma_3 > \dots$), кръвта от нево се премества в следващия участък още преди да е започнала следващата систола и т. н. (фиг. 17.8 а). По време на диастола разтегнатият участък се свива до изходния си обем и енергията му на деформация преминава в работа за изтласкване и в кинетична енергия на движение на кръвта по дължината на съдовете.

Разпространението по аортата и артериите на повишеното (систолично) налягане, предизвикано от изтласкването на кръвта по време на систола, се нарича *пулсова вълна*. Честотата на пулсовата вълна се нарича *пулсова*

или сърдечна честота и е около $70 \text{ min}^{-1} \approx 1,2 \text{ Hz}$. Скоростта на разпространение на пулсовата вълна е $v_p \approx 5 - 10 \text{ m/s}$, докато скоростта на кръвта е само около $0,3 - 0,5 \text{ m/s}$. За времето на една систола (около $0,3 \text{ s}$) кръвта се премества само до долната част на аортата ($0,09 - 0,15 \text{ m}$), а вълната достига на разстояние $1,5 - 3 \text{ m}$, т. е. до всички части на тялото. От това следва, че повишеното налягане достига края на всички артериални съдове преди да е започнало понижаването му в началото на аортата и тези съдове са подложени на разтягане по цялата си дължина. Понижаването на налягането се предава със същата скорост, така че при диастола артериалните съдове се свиват също по цялата си дължина. Този извод показва, че представата за движение на разширен участък по съдовете (фиг. 17.8 а) е нагледна, но неточна. По-близка до действителността е схемата на фиг. 17.8 б.

Скоростта на пулсовата вълна v_p зависи от радиуса на съда r , модула на еластичност E , плътността ρ и дебелината на неговите стени h . За големите съдове е установена зависимостта

$$v_p = \sqrt{\frac{Eh}{2r\rho}}.$$

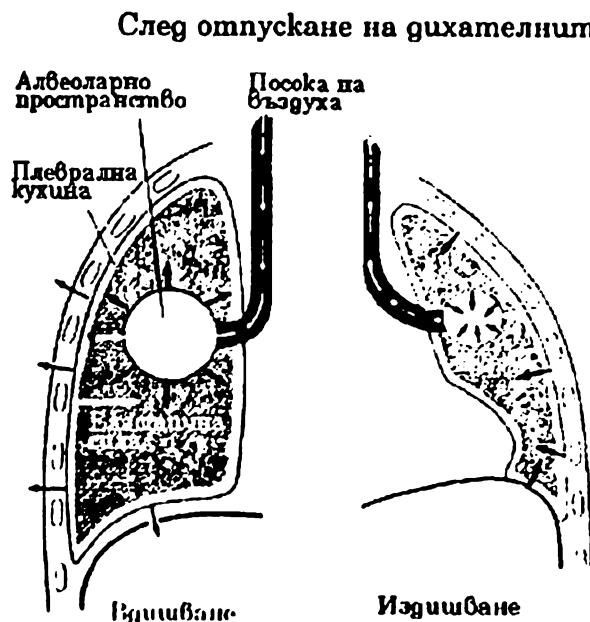
С напредване на възрастта стените на съдовете на човека се променят (склерозират) и модулът им на еластичност нараства. Затова скоростта на пулсовата вълна при възрастни е по-голяма, отколкото при млади хора и при точни измервания може да бъде показател за степента на изменението в стените на кръвоносните съдове.

Благодарение на еластичните свойства на аортата и артериите кръвотокът се превръща от пулсиращ (в началото на аортата) в непрекъснат. Тези съдове се наричат *компресионна камера* на кръвоносната система, тъй като тяхната роля е аналогична на ролята на допълнителните камери в системите от тръби, използвани за транспорт на течности под действието на помпи. Ако стените на кръвоносните съдове бяха твърди, налягането в тях при систола би се увеличавало, а при диастола би намалявало и това би довело до прекъсвания на кръвотока. Тогава количеството кръв, което сърцето трябва да ускорява при всяка систола, не би било равно на

ударния обем, а на целия обем кръв в системата. За придвижване на кръвта със същата скорост би било необходимо по-голямо систолично налягане, което би създавало повишено натоварване на сърцето.

§ 17.5. Механика на дишането

Налягането на въздуха в алвеолите е по-високо от налягането на течността в плевралната кухина. Разликата между тях се нарича *транспулмонално налягане*. При вдишване обемът на гръдния кош се увеличава под действие на дихателните мускули. Разтягането му се предава на белия дроб чрез плевралната течност и тъй като вътреплевралното налягане намалява, транспулмоналното нараства и предизвиква разширение на алвеолите. Тогава (съгласно закона на Бойл-Мариот) налягането на въздуха в алвеолите намалява и когато стане по-ниско от атмосферното, в тях навлиза атмосферен въздух (фиг. 17.9 а).



Фиг. 17.9. Посоки на измененис на обемите на белия дроб и алвеолите (представени като една) и посоки на еластичните сили при вдишване и издишване

кош намалява под действието на еластични сили в системата гръден кош-бял дроб. Това повишава вътреплевралното налягане и понижава транспулмоналното. Тогава под действие на еластичните сили белият дроб се свива, налягането в алвеолите става по-високо от атмосферното и въздухът излиза от тях. Причина за движението на въздуха по дихателните пътища е периодичната промяна на налягането в алвеолите в резултат от действието

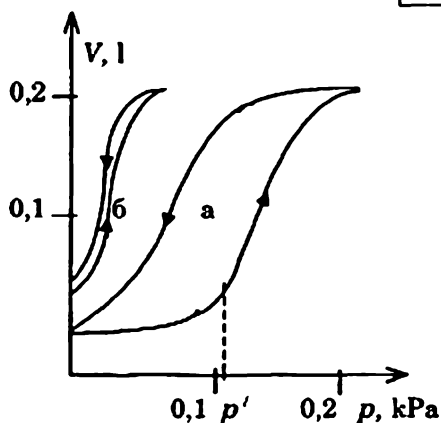
на дихателните мускули и от енергията на еластичната деформация, натрупвана по време на вдишването (фиг. 17.9 б).

Изследванията показват, че промените в големината на транспулмоналното налягане p не могат да бъдат обяснени само с еластичното напрежение σ , възникнало в белия дроб при неговото разтягане. За разлика от други органи и тъкани при деформацията на белия дроб трябва да се има предвид и налягането в алвеолите, предизвикано от силата на повърхностно напрежение на течността, покриваща вътрешната им повърхност. Налягането, което течност с коефициент на повърхностно напрежение α оказва върху сферична повърхност с радиус r , се нарича *лапласово налягане*. Големината му p_L се определя от уравнението на Лаплас:

$$p_L = \frac{2\alpha}{r}.$$

Големината на лапласовото налягане в една алвеола може да се пресметне ориентировъчно, ако се приеме, че тя е сфера с радиус $r \sim 0,15 \text{ mm}$, а $\alpha \sim 55 \text{ mN.m}^{-1}$, колкото е за кръвен серум. Получава се сравнително голямата стойност $p_L \sim 700 \text{ Pa}$, която не може да се пренебрегне. В такъв случай трябва да се приеме, че транспулмоналното налягане p се уравниосява не само от механичното напрежение при еластичната деформация σ , но и от лапласовото налягане:

$$p = \sigma + \frac{2\alpha}{r}. \quad (17.6)$$



Фиг. 17.9. Зависимост на обема от вътрешното налягане при изолиран бял дроб на катка, изпънван с въздух (а) и с физиологичен разтвор (б)

Експерименталните изследвания върху еластичните свойства на изолиран бял дроб не показват линейна зависимост между обема му V и налягането p на въздуха в него. Ако през тръба в изолиран и изпразнен от въздуха (ателектичен) бял дроб се напompва въздух, неговият обем първоначално почти не се увеличава (фиг. 17. 9, крива а). Над определено налягане p' обемът му започва да нараства силно, а след това - по-слабо, докато достигне

постоянна стойност. При обратния процес (постепенно изпускане на въздуха) обемът намалява по-малко, отколкото при напънването и кривата се отмества от първоначалната към по-малките стойности на налягането. Следователно разтягането и свиването на белия дроб се характеризират със силно изразен *хистерезис*. Ако вместо въздух се използва водна среда (напр. физиологичен разтвор), кривите на разтягане и свиване са разположени по-високо, т. е. същият обем се достига с по-ниско налягане, а хистерезисът е много по-слаб (фиг. 17.9, крива б).

Получените на фиг 17.9 криви се обясняват добре въз основа на равенството (17.6). Така в ателектичния дроб алвеолите са свити (имат по-малък радиус) и лапласовото налягане има по-голяма стойност. Първоначалното външно налягане не е достатъчно голямо, за да преодолее алвеоларното и обемът на дроба не се променя. Едва след превишаване на критичното налягане p' обемът започва бързо да нараства. Наличието на хистерезис също е свързано с повърхностни явления, тъй като той се проявява слабо при изпълване на алвеолите с водни разтвори. Тогава свойствата на течността по вътрешната повърхност на алвеолите и свойствата на водната среда са твърде близки, т. е. $\alpha \approx 0$, $p_c \approx 0$ и налягането в тях се определя само от еластичното напрежение (17.6). Това обяснява и увеличаването на обема на белия дроб при значително по-ниско външно налягане в сравнение с налягането, когато се вкарва въздух.

Повърхностното напрежение и еластичността на белодробната тъкан се менят в противоположни посоки в зависимост от радиуса на алвеолите, което създава нестабилност на обема им при промяна на транспулмоналното налягане. Ако то случайно се повиши, обемът на алвеолата нараства неограничено до спукването ѝ, а ако налягането се понижи, алвеолата се свива до много малък обем (колапс). *Стабилизация на алвеолите* се постига с промяна на радиуса и формата им (геометрична стабилизация), с промяна на механичното напрежение на белодробната тъкан (тъканна стабилизация) и с промяна на коефициента на повърхностно напрежение.

В алвеоларната течност се съдържат повърхностноактивни вещества - *сърфактант*, смес от липиди (производни на лецитина) и белтъци. Сърфактантът има интересно свойство – променя

коэффициента си на повърхностно напрежение при промяна на обема на алвеолите. Стойността му в разширени алвеоли е около $40 - 50 \text{ mN.m}^{-1}$, а при свити е $2 - 5 \text{ mN.m}^{-1}$. Това намаление компенсира нарастването на лапласовото налягане поради намаляването на радиуса на алвеолите и предотвратява техния колапс. Сърфактантът покрива вътрешната повърхност на алвеолите и вероятно образува монослой на границата с въздуха. С намаляване на обема на алвеолата плътността на неговите молекули в монослоя се увеличава и това намалява повърхностната активност на сърфактанта.

Някои заболявания на дихателната система могат да бъдат предизвикани от намаляване съдържанието на сърфактант в алвеоларната течност. Това например е причина за затруднено дишане и задушаване на новородени.

§ 18. ХЕМОРЕОЛОГИЯ

§ 18.1. Реологична характеристика на кръвта

Основните фактори, които определят поведението на обемния поток на кръвта Φ в кръвоносната система са:

- хидродинамичните сили, възникващи при работата на сърцето, което създава разлика в налягането Δp между различни части на съдовете;
- геометричните параметри - сечение (радиус r) и дължина на кръвоносните съдове l , големина и форма на кръвните клетки и др.;
- реологичните свойства на кръвта, характеризирани чрез нейния вискозитет η .

От последните два фактора и типа на течение (ламинарно или турбулентно) зависи хидродинамично съпротивление R_h , което хидродинамичните сили преодоляват поради триенето между слоевете на кръвта и триенето между кръвта и стените на кръвоносния съд:

$$R_h = \frac{\Delta p}{\Phi}.$$

Тъй като по закона на Поазъой (9.5) градиентът на налягането $\frac{\Delta p}{\Delta l}$ е движеща сила на обемния поток Φ , т. е.

$$\Phi = \frac{\pi r^4}{8\eta} \cdot \frac{\Delta p}{\Delta l},$$

връзката между трите фактора при ламинарно движение на кръвта е

$$R_h = \frac{8\eta \Delta l}{\pi r^4} \quad (18.1)$$

Полученият израз показва, че *определящо значение за хидродинамичното съпротивление има вискозитетът на кръвта и особено радиусът на кръвоносния съд*. Изменението на радиуса на съдовете играе главна роля за регулиране на кръвното налягане и скоростта на кръвотока при приспособителни реакции, а вискозитетът на кръвта - при микроциркулацията.

Човешката кръв е суспензия на кръвни клетки (еритроцити, левкоцити и тромбоцити) в кръвна плазма, а плазмата с приближение може да се разглежда като 7 %-ен воден разтвор на белтъци. Когато се говори за *вискозитет на кръв*, трябва да се има предвид, че тази величина има смисъл само тогава, когато суспензията може да се разглежда като *хомогенна течност*, т. е. в нея клетките са равномерно разпределени. Нормалните стойности на относителния вискозитет на кръвта (спрямо вискозитета на водата) са $\eta' = 4,2 - 6$, а на кръвната плазма – $\eta'_0 = 1,7 - 2,2$.

Кръвоносната система се разклонява на по-малки съдове и на мрежа от капиляри с диаметър под 1 μm всеки, така че условието за хомогенност е изпълнено само в големите съдове, чийто диаметър е голям в сравнение с диаметъра на еритроцита (8 μm). В малките съдове и особено в капилярите еритроцитите трябва да се разглеждат като хидродинамични нехомогенности. В тях под действие на тангенциалните напрежения еритроцитите се деформират пасивно и реалното съпротивление (вискозитетът) при протичане на кръвта е значително по-малко. Поради деформациите еритроцитите могат да се придвижват един след друг дори в капиляри с диаметър 3 μm , където се извършва газообменът между кръв и тъкани.

С доста добра точност *кръвната плазма може да се приеме за нютонова течност*. При такива течности коефициентът η в закона на Нютон за вътрешното триене (17.2) зависи само от температурата и естеството на течността и не зависи от градиента на скоростта γ . *Кръвта като цяло обаче е ненютонова течност и трябва да се разглежда като псевдопластична тиксотропна суспензия*. Псевдопластичното поведение е характерно за дисперсни системи със слаба вътрешна структура, при които вискозитетът непрекъснато намалява с нарастването на градиента. Тиксотропията е реологично свойство, проявяващо се в намаляване на вискозитета с времето през периода на действие на тангенциалното напрежение τ .

Терминът суспензия в случая не е напълно точен, тъй като по дефиниция суспензията е смес на твърди частици с течност. Клетъчните мембрани са в течнокристално състояние и клетките могат да бъдат оприличени на капки течност. От това следва, че кръвта би трябвало да е *емулсия*. При определени външни условия обаче клетките имат постоянен обем, макар и да са деформируеми. Освен това те не могат безпрепятствено да се сливат, въпреки че в редица случаи могат да образуват агрегати. Ето защо по-целесъобразно е кръвта да се разглежда като клетъчна суспензия, а не като емулсия.

Главните фактори, от които зависи вискозитетът на кръвта, са: вискозитетът на плазмата, хематокритът, деформируемостта и агрегацията на еритроцитите.

§ 18.2. Зависимост на вискозитета на кръвта от хематокрита

Хематокрит е относителната обемна част на клетъчните компоненти в кръвта (обемна концентрация на клетките). Той се изразява в части от единицата или в проценти. Стойността му за здрави хора е около 0,45 или 45 %, от които частта на левкоцитите и тромбоцитите е около 1 %. Кръвта може да се разглежда като нютонова течност при хематокрит не по-висок от 5 %. Тогава нейният вискозитет се подчинява на *уравнението на Айнщайн* за вискозитет на суспензии от твърди частици:

$$\boxed{\eta = \eta_0 (1 + \alpha H)} \quad (18.2)$$

Тук η и η_0 са съответно вискозитетите на суспензията (кръвта) и на дисперсната среда (плазмата), а α - фактор на формата (за сферични частици $\alpha = 2,5$).

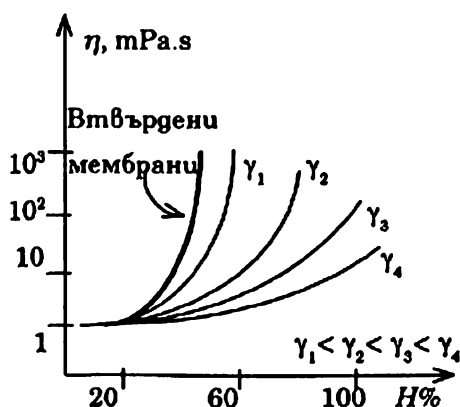
С повишаване на хематокрита уравнението на Айнщайн не може да се прилага, тъй като не отчита взаимодействието между частиците. За такива случаи са предложени няколко емпирични обобщения като например:

$$\boxed{\eta = \eta_0 (1 - H)^{-\alpha}} \quad \text{и} \quad \boxed{\eta = \eta_0 (1 - TH)^{-\alpha}} \quad (18.3)$$

Последното уравнение отчита и наличието на вътрешен вискозитет на еритроцитите η_i посредством функцията $T = f(\eta_i)$.

Зависимостта на вискозитета от хематокрита при различни градиенти на скоростта, получена с ротационен вискозиметър в интервала $\dot{\gamma} = 0,52 - 52 \text{ s}^{-1}$ при 37°C за кръв от куче, е представена на фиг. 18.1. Вижда се, че с увеличаване на хематокрита вискозитетът нараства при всички зададени стойности на градиента. От друга страна при всяка стойност на хематокрита нарастването на градиента води до намаляване на вискозитета, както е при псевдопластичните течности.

Ако опитите се повторят върху еритроцити с втвърдени мембрани (фиксиран с глутаралдехид), вискозитетът нараства



Фиг. 18.1. Зависимости на вискозитета от хематокрита при различни градиенти на скоростта

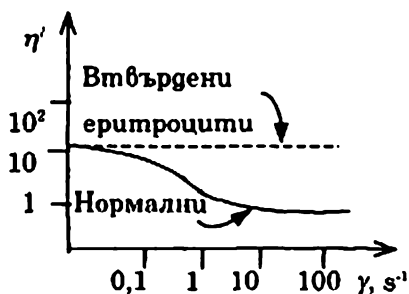
още по-силно с увеличаване на хематокрита, но зависимост от градиента не се наблюдава, т. е. предишните криви се сливат в една по-стръмна крива. Всичко това показва, че намаляването на вискозитета при средни и големи стойности на градиента на скоростта може да се обясни с деформация на еритроцитите. Благодарение на деформируемостта на еритроци-

тите кръвта тече дори при хематокрит, близък до 100 % (96 %).

Хематокритът в близост до стените на съдовете е по-нисък, отколкото по техните оси. Това нехомогенно разпределение на кръвните клетки е известно като *ефект на Фареус-Линдквист*. То е причина за намаляване на вискозитета и хидравличното съпротивление до съдовата стена и за промяна на профила на скоростите.

§ 18.3. Деформируемост на еритроцитите

Деформируемостта на еритроцитите е тяхно микрореологично свойство, което прави кръвта неютонова течност. Това е способността им да променят формата си под действие на външни сили. Така например в покой те имат най-често форма на дискоцити (), а в движение - временно-образна форма на целелини ().



Фиг. 18.2. Зависимости на относителния вискозитет на кръвта от градиента на скоростта

Понижаването на вискозитета на кръвта поради деформируемостта на еритроцитите се вижда при сравняване на графичните зависимости на вискозитета от градиента на скоростта, получени при нормални и втвърдени еритроцити (фиг. 18.2).

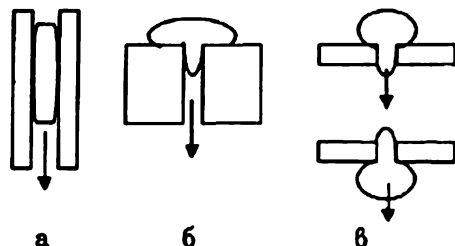
Деформируемостта на еритроцитите зависи от следните три фактора: геометрични параметри (обем, повърхнина, форма), вискозитет на вътрешното им съдържание и вискоеластични свойства на техните мембрани.

• Геометрични параметри

Обемът на един еритроцит е приблизително $90 \mu\text{m}^3$, а неговата повърхнина - $130 \mu\text{m}^2$. Отношението на действителната повърхнина на еритроцита S към онази S_0 , която е необходима да побере неговото вътрешно съдържание, се нарича *повърхностен индекс*:

$$\frac{S}{S_0} \sim 1,3.$$

Стойността му показва, че еритроцитът има 30 % излишна повърхнина и в това отношение може да бъде сравнен с една непълнена затворена торба. Докато една натъпкана затворена торба



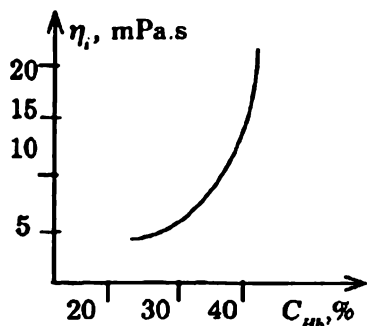
Фиг.18.3. Еритроцит, преминаващ през тънка тръбичка (а), непреминаващ (б) и преминаващ през отвор (в).

запазва формата си и дори стои изправена, непълната торба може да променя формата си, без да променя големината на своята повърхнина. Така излишната повърхнина дава възможност на еритроцита да променя формата си и да преминава през тънки тръбички, в които заема

цилиндрична форма (фиг. 18.3). През още по-тънки тръбички той може да не премине, но преминава през отвори със същия диаметър, преливайки съдържанието си от непреминалата част във вече преминалата.

• Вискозитет на вътрешното съдържание

В еритроцита се съдържат около 70% вода, 25% хемоглобин и 5% липиди, захари, соли, ензими. Вискозитетът на това вътрешно



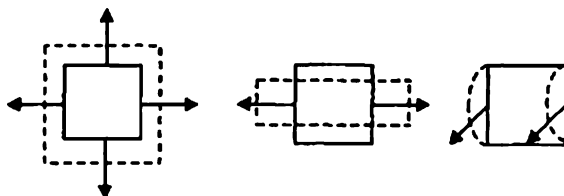
Фиг. 18.4. Зависимост на вътрешния вискозитет от концентрацията на хемоглобина

съдържание ($\eta_i \sim 7 \text{ mPa.s}$) се определя от вискозитета на хемоглобина, а последният - от концентрацията на хемоглобин. Както се вижда от фиг. 18.4, малки изменения в неговата концентрация силно променят η_i . Това се наблюдава и при някои заболявания. Така например при сърповидноклетъчна анемия се получава агрегация на молекулите на хемоглобина в близост до мембраната. Това не само изменя формата

на еритроцита и проникваемостта на мембраната му, но понижава разтворимостта на хемоглобина и силно увеличава η_i .

• Вискоеластични свойства на мембраната

При движение на еритроцита в кръвоносните съдове мембраната му може да бъде подложена на следните деформации: все-
 странично (изотропно) опъване или свиване, едноосно опъване и огъва-
 не (фиг. 18.5).

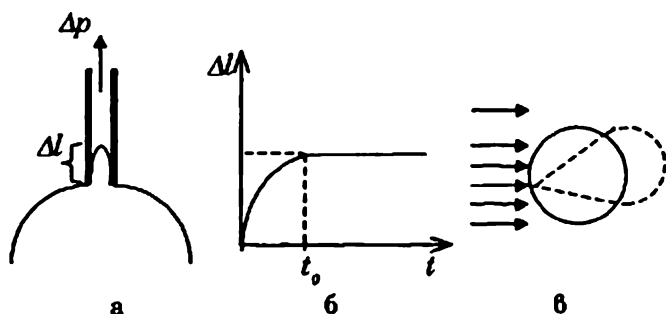


Фиг. 18.5. Възможни деформации на еритроцитна мембрана

Коефици-
 ентът на все-
 странично опъване
 има много ниска
 стойност и показ-
 ва, че площта на
 мембраната може

да се увеличи най-много с 1 - 2 %. Еритроцитната мембрана е прак-
 тически неразтеглива за разлика от гумсна ципа, която увеличава
 площта си, като намалява своята дебелина (постоянство на обема).
 Средните деформации на мембраната при физиологични условия са
 от порядъка на 0,01 %. Границата ѝ на издържливост (якост) е дос-
 та ниска - мембраната се къса при вътрешно налягане, по-ниско от
 100 Pa, което увеличава площта ѝ с по-малко от 2 %. Затова осмо-
 тично набъбване на клетката е възможно дотогава, докато тя при-
 еме идеално сферична форма, но преди да се достигне границата на
 издържливост на мембраната.

Механичните свойства на клетъчни мембрани се изследват
 с молекулни (ЕИР), флуоресцентни и феноменологични методи. По-
 следните се основават на предизвикване и измерване на деформации.



Фиг. 18.6. Методи за изследване на еластичните
 свойства на мембраните: микроаспирация (а, б),
 обтичане в поток (в)

Такъв е методът
 засмукване (мик-
 роаспирация) на
 еритроцит в ка-
 пилляра с гуаме-
 тър 1 - 2 μm при
 разлика в наля-
 гането $\Delta p \approx 40 \text{ Pa}$
 (фиг. 18.6). При
 $\Delta p = \text{const}$ дефор-
 мацията Δl на-

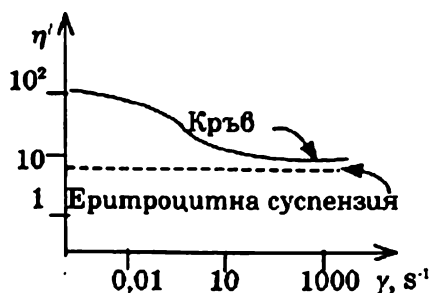
раства с времето t (изтегливост) до един момент t_0 , след което остава постоянна.

Модулът на еластичност на мембраната може да се определи по разликата в радиусите на кривина на засмуканата и свободната част на клетката. За да се избегнат грешки, дължащи се на контакта на капилярата с мембраната, се предпочита еластичността да се оценява по скоростта на възстановяване (релаксация) на мембраната, освободена след засмукването. Друг метод е деформиране на еритроцит, прикрепен към подложка в една точка, което се получава при обтичане с външен поток течност.

Резултатите за модул на еластичност на човешка еритроцитна мембрана, получени с различни методи, се различават твърде много. Така чрез микроаспирация се получава около $10^6 - 10^7$ Ра, а чрез обтичане в поток - около 10^3 Ра. Физични съображения с отчитане на молекулната структура на мембраната водят до извода, че модулът на еластичност на мембраната трябва да е около 10^8 Ра, колкото е и на каучука.

§ 18.4. Зависимост на вискозитета на кръвта от агрегацията на еритроцитите

В нормална кръв при малки градиенти на скоростта еритроцитите образуват обратимо така наречените *монетни стълбчета*. Както показва името,



Фиг. 18.7. Зависимости на относителния вискозитет от градиента на скоростта при кръв и суспензия

клетките се струпват една до друга и образуват устойчиви стълбчета, като тези стълбчета също могат да се свързват помежду си. Тенденцията към агрегация се стимулира от макромолекули с дълги вериги (фибриноген) и други вещества. Необходимо условие за агрегация е ламинарното движение на кръвта.

С нарастване на градиента над определена критична стойност започва разрушаване на агрегатите, което води до понижаване на

вискозитетата на кръвта. Това се вижда от графичната зависимост на относителния вискозитет от градиента, показана на фиг. 18.7.

Ако вместо кръв се изследва суспензия на еритроцити във физиологичен разтвор, съдържащ 11 % албумин, вискозитетът остава практически постоянен, тъй като суспензията не съдържа фибриноген и в нея няма агрегати. Вискозитетите на кръвта и на суспензията съвпадат над онази стойност на градиента, която предизвиква пълна дезагрегация.

В някои патологични случаи в кръвта се получават струпвания на еритроцити, които не могат да се разпадат. Този необратим процес се нарича *аглутинация* и се различава от агрегацията, която е обратима. Някои от основните методи за изследване на тези процеси се основават на разсейването и поглъщането на светлина.

Асоциациите от еритроцити (агрегати или аглутинати), снижената деформируемост и повишеният плазмен вискозитет създават предпоставки за *повишаване на общото периферно съпротивление* на кръвоносната система и за влошаване на тъканното кръвоснабдяване. Това допринася за изменения в газовия обмен и обмена на органичните и неорганичните метаболити и нарушава нормалния тъканен метаболизъм.

От изследвания върху реологичните промени на микроциркулацията могат да се получат допълнителни данни за възникването и развитието на сърдечно-съдовите и мозъчно-съдовите заболявания. Сега факторите, определящи големината на кръвния вискозитет, са обект на обширни проучвания. Те се дефинират и като *рискови реологични фактори*, допринасящи за развитие на хипертония, ендотелни лезии, атеросклероза и тромбоза, които са основните компоненти в отключването и/или задълбочаването на сърдечно-съдовите заболявания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Албертс, Б. и др. Молекулярная биология клетки, т. 1. М., Мир, 1994, 518 с.
2. Блюменфелд, Л. А. Проблемы на биологичната физика. С., Наука и изкуство, 1981, 304 с.
3. Бретчер, М. С. Молекулы клеточных мембран. В мире науки, 1985, 12, 52-61.
4. Владимиров, Ю. А. и др. Биофизика. М., Медицина, 1983, 272 с.
5. Волькенштейн, М. В. Биофизика. М., Наука, 1988, 592 с.
6. Врански, В., Р. Петрова. Физика с основи на биофизиката. С., Земиздат, 1973, 424 с.
7. Глазер, Р. Очерк основ биомеханики. М., Мир, 1988, 128 с.
8. Губанов, Н. И., А. А. Утепбергенов. Медицинска биофизика. С., Медицина и физкултура, 1980, 232 с.
9. Давыдов, А. С. Биология и квантовая механика. Киев, Наукова думка, 1979, 296 с.
10. Иванов, И. Т. Учебник по медицинска физика и биофизика. Стара Загора, ЖТС Дизайн, 2000, 232 с.
11. Котык, А., К. Яначек. Мембранный транспорт. М., Мир, 1980, 342 с.
12. Левтов, В., С. Регирер, Н. Шагрина. Реология крови. М., Медицина, 1982, 280 с.
13. Ленинджер, А. Биохимия, т. 1. М., Мир, 1985, 366 с.
14. Маршелл, Э. Биофизическая химия, т. 1. М., 1981, 360 с.
15. Митрани, Л., К. Боев. Биофизика. С., Наука и изкуство, 1978, 306 с.
16. Николова, Н. Физика с основи на биофизиката. С., Наука и изкуство, 1989, 426 с.
17. Овчинников, Ю. А. Биоорганическая химия. М., Просвещение, 1987, 816 с.
18. Петрова, Р. (ред). Ръководство за лабораторни упражнения по биофизика. С., Медицина и физкултура, 1986, 104 с.

19. Попов, А., Н. Янишлilieва. Автоокисление и стабилност на липидите. С., Изд. на БАН, 1976, 254 с.
20. Ремизов, А. Н. Медицинская и биологическая физика. М., Высшая школа, 1987, 638 с.
21. Рубин, А. Б. Биофизика, т. 1. М., Высшая школа, 1987, 320 с.
22. Рубин, А. Б. Биофизика, т. 2. М., Высшая школа, 1987, 304 с.
23. Стоилов, С. и др. Биофизика. С., Медицина и физкултура, 1985, 160 с.
24. Фрайфелдер, Д. Физическая биохимия. М., Мир, 1980, 582 с.
25. Цветков, Н., П. Бочев. Свободно-радикални увреждания. Перспективи на антиоксидантната профилактика и терапия. С., Център за информация по медицина, 1996, 146 с.
26. Шмидт, Р., Т. Тебс (ред.) Физиология человека, т. 3. М., Мир, 1986, 288 с.
27. Glaser, R. Biophysics. Berlin, Springer-Verlag, 2000, 362 p.
28. Roy, R. N. A text book of biophysics. Calcutta, New central book agency (P) Ltd, 1996, 682 p.
29. Shechter, E., B. Rossignol. Biochimie et biophysique des membranes. Paris, Masson, 1997, 460 p.
30. Stryer, L. Biochemistry. New York, W. H. Freeman and Company, 1988, 1090 p.

**БИОФИЗИКА - учебник за студенти
по медицина, фармация и стоматология**

МАРИН ИВАНОВ МАРИНОВ,
доктор по химия, доцент по биофизика и доцент по физика,
Ръководител на Катедрата по физика и биофизика
в Медицинския университет – София,
1431 София, ул. “Здраве” № 2, тел. 541372
e-mail: marinov@medfac.acad.bg

Печат: ЕТ “ВМ – ОФСЕТ”, София, ул.

ЗАБЕЛЯЗАНИ ПЕЧАТНИ ГРЕШКИ И ПРОПУСКИ
(Не са включени случаите на неправилно сричкопренасяне,
получени при компютърната текстообработка)

Стр.	Рег	Напечатано	Да се чете
40	1 отдолу	dS_i	$\frac{dS_i}{dt}$
47	12 отдолу	въшната	външната
48	1 отдолу	<i>in vivo</i>	<i>in vivo</i>
53	Фиг. 4.2.	$(CH_2)_{18}$	$(CH_2)_{16}$
54	3 отдолу	линолева	лиолова
61	11/10 отдолу	захари	монозахарида
75	под фиг.	Фиг. 5.4. Обикновен и обърнат мицел	Фиг. 5.4. Обърнат и обикновен мицел
85	12 отгоре	белтъците	белтъците
90	4 отдолу	капацитет	капацитет C_1
95	17 отдолу	температура-та	температурата
105	15 отдолу	$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} \rightarrow 2 {}^1O_2$	$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2 H^+ \rightarrow {}^1O_2 + H_2O_2$
105	14 отдолу	$O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow 2 {}^1O_2 + H_2$	$O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow {}^1O_2 + OH^- + OH^{\bullet}$
106	17 отгоре	полярна и водна	полярна (водна)
111	16 отгоре	фенатиозин	фенотиазин
122	9 отдолу	с радиус r в среда	с радиус r и скорост v в среда
125	12 отгоре	със скорост v .	със скорост $v = \frac{dx}{dt}$, а $c = \frac{dm}{dV}$
129	9 отдолу	дифузионния поток.	дифузионния поток на водата.
131	5 отгоре	на веществата	на вода и някои вещества
143	13 отгоре	Сързването	Свързването
153	4 отдолу	$c_1 \leq c \leq c_2$	$c_2 \leq c \leq c_1$
155	15 отдолу	$c_1 \leq c \leq c_2$	$c_2 \leq c \leq c_1$
168	16 отдолу	кондензаторът C	кондензаторът C_m
171	4 отгоре	от 1 (при деполяриза- ция) до 0	от 0 (при деполяризация) до 1
173	7 отгоре	мембраната	мембраната
177	3 отгоре	$z^- = -z^+ = z$	$z^- = -z^+ = -z$
203	10 отгоре	$C = \frac{\epsilon_r S}{d}$	$C = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r S}{d}$
203	12 отгоре	но за $M=0$ промевлив	но за променлив
207	9 отгоре	наг 1 GHz	около 1 GHz = 10^9 Hz
208	14 отдолу	на импеданса,	на импеданса, както и на ϵ ,
220	2 отдолу	на съда е	на съда, което е
224	14 отдолу	елестичност	еластичност
227	13 отдолу	Повърхностното напре- жение и еластичността	Лапласовото налягане и механичното напрежение
228	5 отдолу	хидродинамично	хидродинамичното