

ГЛАВА 2. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

Живые системы на всех уровнях организации – открытые системы. Поэтому транспорт веществ через биологические мембранны – необходимое условие жизни. С переносом веществ через мембранны связаны процессы метаболизма клетки, биоэнергетические процессы, образование биопотенциалов, генерация нервного импульса и др. Нарушение транспорта веществ через биомембранны приводит к различным патологиям. Лечение часто связано с проникновением лекарств через клеточные мембранны. Эффективность лекарственного препарата в значительной степени зависит от проницаемости для него мембранны.

Большое значение для описания транспорта веществ имеет понятие электрохимического потенциала.

Химическим потенциалом данного вещества μ_k называется величина, численно равная энергии Гиббса, приходящаяся на один моль этого вещества. Математически химический потенциал определяется как частная производная от энергии Гиббса G по количеству k -го вещества, при постоянстве температуры T , давления P и количествах всех других веществ m_l ($l \neq k$):

$$\mu_k = \left(\frac{\partial G}{\partial m_k} \right)_{P, T, m_{l \neq k}}.$$

Для разбавленного раствора концентрации вещества C :

$$\mu = \mu_0 + RT \ln C,$$

где μ_0 – стандартный химический потенциал, численно равный химическому потенциалу данного вещества при его концентрации 1 моль/л в растворе.

Электрохимический потенциал $\tilde{\mu}$ – величина, численно равная энергии Гиббса G на один моль данного вещества, помещенного в электрическом поле.

Для разбавленных растворов

$$\tilde{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + ZF\phi, \quad (2.1)$$

где $F = 96500$ Кл/моль – число Фарадея, Z – заряд иона электролита (в элементарных единицах заряда), ϕ – потенциал электрического поля, T [К] – температура.

Транспорт веществ через биологические мембранные можно разделить на два основных типа: пассивный и активный.

§ 6. Пассивный перенос веществ через мембрану

Пассивный транспорт – это перенос вещества из мест с большим значением электрохимического потенциала к местам с его меньшим значением (2.1).

Пассивный транспорт идет с уменьшением энергии Гиббса, и поэтому этот процесс может идти самопроизвольно без затраты энергии.

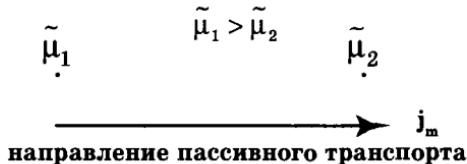


Рис. 2.1. Схема пассивного транспорта

Плотность потока вещества j_m при пассивном транспорте подчиняется **уравнению Теорелла**:

$$j_m = -UC \frac{d\tilde{\mu}}{dx}, \quad (2.2)$$

где U – подвижность частиц, C – концентрация. Знак минус показывает, что перенос происходит в сторону убывания $\tilde{\mu}$. Плотность потока вещества – это величина, численно равная количеству вещества, перенесенного за единицу времени через единицу площади поверхности, перпендикулярной направлению переноса:

$$j_m = \frac{m}{S \cdot t} \left(\frac{\text{МОЛЬ}}{\text{М}^2 \cdot \text{с}} \right).$$

Подставив в (2.2) выражение для электрохимического потенциала (2.1), получим для разбавленных растворов при $\mu_0 = \text{const}$ **уравнение Нернста–Планка**:

$$j_m = -URT \frac{dC}{dx} - UCZF \frac{d\phi}{dx}. \quad (2.3)$$

Итак, могут быть две причины переноса вещества при пассивном транспорте: градиент концентрации $\frac{dC}{dx}$ и градиент элект-

рического потенциала $\frac{d\phi}{dx}$. Знаки минусов перед градиентами показывают, что градиент концентрации вызывает перенос вещества от мест с большей концентрацией к местам с его меньшей концентрацией; а градиент электрического потенциала вызывает перенос положительных зарядов от мест с большим к местам с меньшим потенциалом.

В отдельных случаях вследствие сопряжения этих двух причин может происходить пассивный перенос вещества от мест с меньшей концентрацией к местам с большей концентрацией, если второй член уравнения (2.3) по модулю больше первого, и может происходить перенос вещества от мест с меньшим потенциалом к местам с большим потенциалом, если первый член уравнения (2.3) по модулю больше второго.

В случае неэлектролитов ($Z = 0$) или отсутствия электрического поля ($\frac{d\phi}{dx} = 0$) уравнение Теорелла переходит в уравнение:

$$j_m = -URT \frac{dC}{dx}.$$

Согласно соотношению Эйнштейна коэффициент диффузии $D = URT$. В результате получаем уравнение, описывающее простую диффузию – **закон Фика**:

$$j_m = -D \frac{dC}{dx}. \quad (2.4)$$

На рис. 2.2 представлена классификация основных видов пассивного транспорта через мембрану, а на рис. 2.3 – основные разновидности простой диффузии через мембрану.

Диффузия – самопроизвольное перемещение вещества из мест с большей концентрацией в места с меньшей концентрацией вещества вследствие хаотического теплового движения молекул.

Диффузия вещества через липидный бислой (рис. 2.3а) вызывается градиентом концентрации в мембране. Плотность потока вещества по закону Фика

$$j_m = -D \text{grad} C \approx -D \frac{C_2^m - C_1^m}{l} = D \frac{C_1^m - C_2^m}{l}, \quad (2.5)$$

где C_1^m – концентрация вещества в мембране около одной ее поверхности и C_2^m – около другой, l – толщина мембраны.

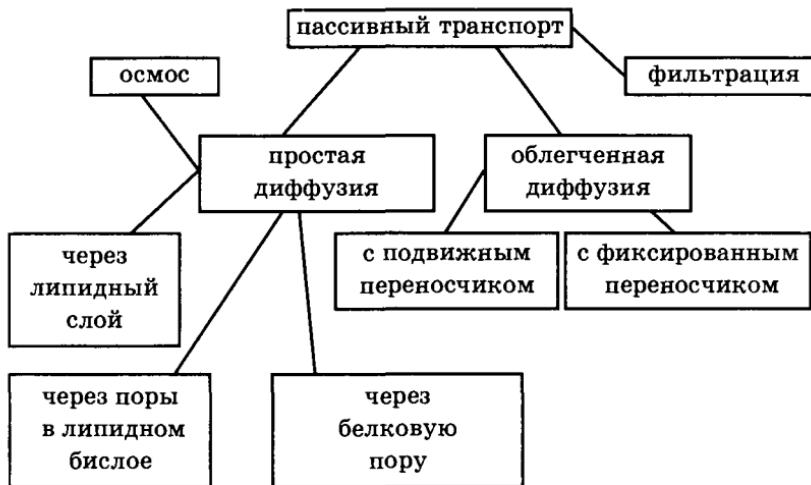


Рис. 2.2. Классификация видов пассивного транспорта

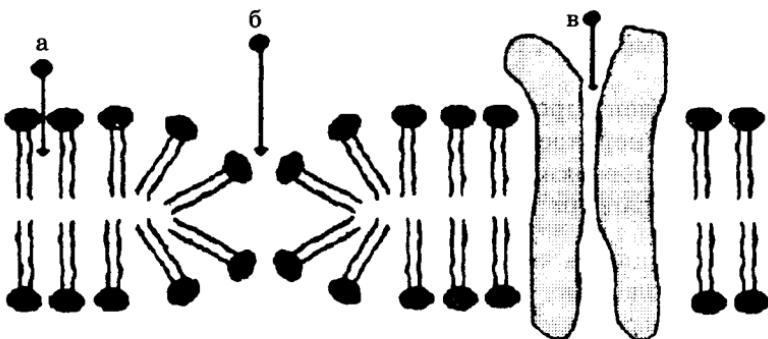


Рис. 2.3. Основные разновидности простой диффузии через мембрану: через липидный бислой (а), через пору в липидном бислое (б), через белковую пору (в)

Градиент концентрации приблизительно равен $\frac{C_2^M - C_1^M}{l}$, (рис. 2.4).

Так как измерить концентрации C_1^M и C_2^M трудно, на практике пользуются формулой, связывающей плотность потока вещества через мембрану с концентрациями этого вещества не внутри мембраны, а снаружи в растворах около поверхностей мембранны, C_1 и C_2 (рис. 2.4):

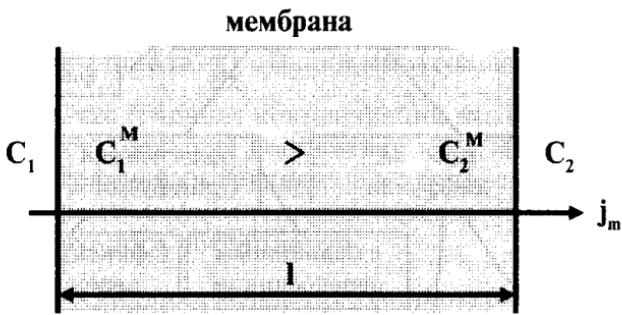


Рис. 2.4. Схема простой диффузии через липидный бислой мембранны

$$j_m = P(C_1 - C_2), \quad (2.6)$$

где P – коэффициент проницаемости мембраны. Так как плотность потока вещества j имеет размерность моль/ $\text{м}^2 \cdot \text{с}$, концентрация C – моль/ м^3 , размерность коэффициента проницаемости P – $\text{м}/\text{с}$.

Коэффициент проницаемости мембраны зависит от свойств мембраны и переносимых веществ. Если считать концентрации вещества у поверхности в мемbrane прямо пропорциональными концентрациям у поверхности вне мембраны, то

$$C_1^M = KC_1 \quad (2.7a)$$

$$C_2^M = KC_2. \quad (2.7b)$$

Величина K носит название коэффициента распределения, который показывает соотношение концентрации вещества вне мембраны и внутри ее. Подставив (2.7а, б) в (2.3), получим:

$$j_m = \frac{DK}{l}(C_1 - C_2). \quad (2.8)$$

Из уравнений (2.8) и (2.6) видно, что коэффициент проницаемости:

$$P = \frac{DK}{l}. \quad (2.9)$$

Коэффициент проницаемости тем больше, чем больше коэффициент диффузии (чем меньше вязкость мембраны), чем тоньше

мембрана (чем меньше K) и чем лучше вещество растворяется в мембране (чем больше K).

Хорошо растворимы в фосфолипидной фазе мембранны неполярные вещества, например органические жирные кислоты, эфиры. Этим вещества хорошо проникают через липидную фазу мембранны.

Плохо проходят через липидный бислой полярные, водорастворимые вещества: соли, основания, сахара, аминокислоты, спирты.

На первый взгляд, представляется необъяснимым сравнительно большое значение коэффициента проницаемости липидной мембранны для воды.

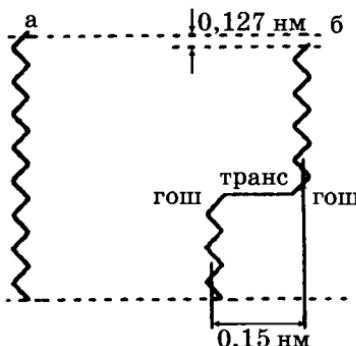


Рис. 2.5. Углеводородные цепи в полностью транс-конформации (а) и гош-транс-гош-конформации (б)

В последнее время проникновение через липидные бислойные мембранны мелких полярных молекул связывают с образованием между жирнокислотными хвостами фосфолипидных молекул при их тепловом движении небольших свободных полостей – кинков (от англ. *kink* – петля), образованных гош-транс-гош-конформацией липидных молекул (рис 2.5).

Вследствие теплового движения хвостов кинки могут перемещаться поперек мембранны и переносить попавшие в них мелкие молекулы, в первую очередь молекулы воды.

Через липидные и белковые поры (рис. 2.3, б, в) сквозь мембрану проникают молекулы нерастворимых в липидах веществ и водорастворимые гидратированные ионы (окруженные молекулами воды). Для жиронерастворимых веществ и ионов мембрана выступает как молекулярное сито: чем больше размер молекулы, тем меньше проницаемость мембранны для этого вещества.

Избирательность переноса обеспечивается набором в мембране пор определенного радиуса, соответствующих размеру проникающей частицы. Это распределение зависит от мембранных потенциалов. Так, избирательные для ионов калия поры в мембране эритроцитов имеют сравнительно низкий коэффициент проницаемости, равный 4 пм/с при мембранных потенциалах 80 мВ, который уменьшается в четыре раза с понижением потенциала до 40 мВ. Проницаемость мембраны аксона кальмара для ионов калия при уровне потенциала возбуждения определяется калиевыми каналами, радиус которых численно оценивается как сумма кристаллического радиуса иона калия и толщины одной гидратной оболочки ($0,133 \text{ нм} + 0,272 \text{ нм} = 0,405 \text{ нм}$). Следует подчеркнуть, что селективность ионных каналов неабсолютна, каналы доступны и для других ионов, но с меньшими значениями Р (табл. 2.1.).

Таблица 2.1. Отношение проницаемостей для одновалентных ионов в калиевом канале аксона кальмара

$\frac{P_{\text{ион}}}{P_{\text{калий}}}$	Ион	Кристаллический радиус, нм
0,018	Литий	0,060
0,010	Натрий	0,095
1,000	Калий	0,133
0,910	Рубидий	0,148
0,077	Цезий	0,169

Из табл. 2.1 следует, что максимальная величина Р соответствует ионам калия. Ионы с большими кристаллическими радиусами (рубидий, цезий) имеют меньшие Р, по-видимому, потому, что их размеры с одной гидратной оболочкой превышают размер канала. Менее очевидна причина сравнительно низкого Р для ионов лития и натрия, имеющих меньший сравнительно с калием радиус. Исходя из представлений о мембране как молекулярном сите, можно было бы думать, что они должны свободно проходить через калиевые каналы. Одно из возможных решений этого противоречия предложено Л. Муллинзом. Он предполагает, что в растворе вне поры каждый ион имеет гидратную оболочку, состоящую из трех сферических слоев молекул воды. При вхождении в пору гидратированный ион “раздевается”, теряя воду послойно. Пора будет проницаема для иона, если ее диаметр точно соответствует диаметру любой из

этих сферических оболочек. Как правило, в поре ион остается с одной гидратной оболочкой. Расчет, приведенный выше, показывает, что радиус калиевой поры составит в этом случае 0,405 нм. Гидратированные ионы натрия и лития, размеры которых не кратны размерам поры, будут испытывать затруднение при прохождении через нее. Отмечено своеобразное “квантование” гидратированных ионов по их размерам при прохождении через поры.

В биологических мембранах был обнаружен еще один вид диффузии – **облегченная диффузия**. Облегченная диффузия происходит при участии молекул переносчиков. Например, **валиномицин** – переносчик ионов калия. Молекула валиномицина имеет форму манжетки, устланной внутри полярными группами, а снаружи – неполярными (рис. 2.6).

В силу особенности своего химического строения валиномицина, во-первых способен образовывать комплекс с ионами калия, попадающими внутрь молекулы-манжетки, и, во-вторых, валиномицин растворим в липидной фазе мембранны, так как снаружи его молекула неполярна. Молекулы валиномицина, оказавшиеся у поверхности мембранны, могут захватывать из окружающего раствора ионы калия (рис. 2.7). Диффундируя в мембране, молекулы переносят калий через мембрану, и некоторые из них отдают ионы в раствор по другой стороне мембранны. Таким образом и происходит перенос иона калия через мембрану валиномицином.

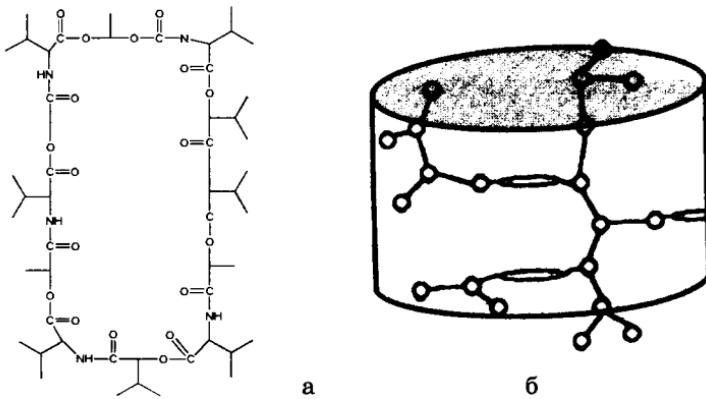


Рис. 2.6. Строение молекул ионофора (молекулы валиномицина):
а – химическая формула [*L*-лактат – *L*-валин – *D*-окси-изовалериановая кислота – *D*-валин];
б – общий вид (кружочками обозначены химические группы, двойными черточками – водородные связи)

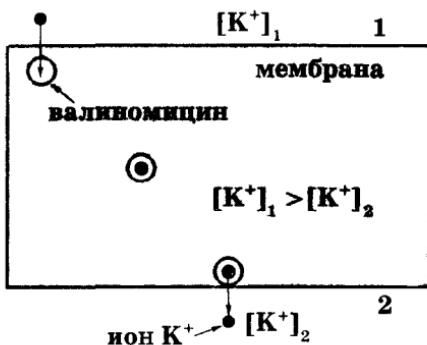


Рис. 2.7. Схема переноса валиномицином ионов калия через мембрану

Разумеется, перенос калия валиномицином может происходить через мембрану и в одну и в другую сторону. Поэтому, если концентрации калия по обе стороны мембраны одинаковы, поток калия в одну сторону будет такой же, что и в другую, и в результате переноса калия через мембрану не будет. Но если с одной стороны концентрация калия больше, чем с другой ($[K^+]_1 > [K^+]_2$), то здесь ионы будут чаще захватываться молекулами переносчика, чем с другой стороны, и поток калия в сторону уменьшения $[K^+]$ будет больше, чем в противоположную.

Облегченная диффузия, таким образом, происходит от мест с большей концентрацией переносимого вещества к местам с меньшей концентрацией. По-видимому, облегченной диффузией объясняется также перенос через биологические мембранны аминокислот, сахаров и других биологически важных веществ.

Отличия облегченной диффузии от простой:

1) перенос вещества с участием переносчика происходит значительно быстрее;

2) облегченная диффузия обладает свойством насыщения (рис. 2.8): при увеличении концентрации с одной стороны мембранны плотность потока вещества возрастает лишь до некоторого предела, когда все молекулы переносчика уже заняты;

3) при облегченной диффузии наблюдается конкуренция переносимых веществ в тех случаях, когда переносчиком переносятся разные вещества; при этом одни вещества переносятся лучше, чем другие, и добавление одних веществ затрудняет транспорт других; так, из сахаров глюкоза переносится лучше, чем фруктоза, фруктоза лучше, чем ксилоза, а ксилоза лучше, чем арабиноза, и т.д.;

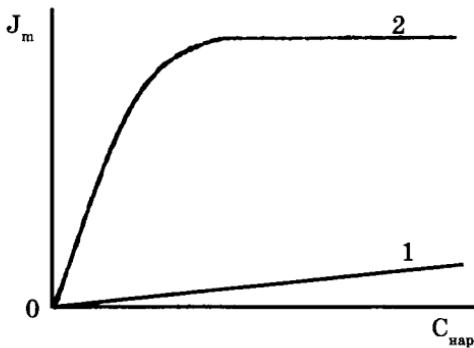


Рис. 2.8. Зависимость плотности потока J_m веществ через биологическую мембрану в клетку в зависимости от концентраций $C_{\text{нар}}$ этих веществ во внеклеточной среде при простой (1) и облегченной (2) диффузии (считается, что концентрация внутри клетки изменяется незначительно)

4) есть вещества, блокирующие облегченную диффузию – они образуют прочный комплекс с молекулами переносчика, например, флоридзин подавляет транспорт сахаров через биологическую мембрану.

Если транспорт какого-либо вещества через биологическую мембрану обладает этими особенностями, можно сделать предположение, что имеет место облегченная диффузия.

Разновидностью облегченной диффузии является транспорт с помощью неподвижных молекул-переносчиков, фиксированных определенным образом поперек мембраны. При этом молекула переносимого вещества передается от одной молекулы переносчика к другой, как по эстафете.

Фильтрацией называется движение раствора через поры в мембране под действием градиента давления. Скорость переноса при фильтрации подчиняется закону Пуазейля:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{P_1 - P_2}{W},$$

где $\frac{dV}{dt}$ – объемная скорость переноса раствора, W – гидравлическое сопротивление, $W = \frac{8\eta l}{\pi r^4}$, l – длина поры, r – ее радиус, η – коэффициент вязкости раствора.

Явление фильтрации играет важную роль в процессах переноса воды через стенки кровеносных сосудов.

Оsmos – преимущественное движение молекул воды через полупроницаемые мембранны (непроницаемые для растворенного вещества и проницаемые для воды) из мест с меньшей концентрацией растворенного вещества в места с большей концентрацией. Оsmos – по сути дела, простая диффузия воды из мест с ее большей концентрацией в места с меньшей концентрацией воды. Оsmos играет большую роль во многих биологических явлениях. Явление осмоса обусловливает гемолиз эритроцитов в гипотонических растворах.

§ 7. Активный транспорт веществ. Опыт Уссинга

Активный транспорт – это перенос вещества из мест с меньшим значением электрохимического потенциала в места с его большим значением (рис. 2.9).

Активный транспорт в мембране сопровождается ростом энергии Гиббса, он не может идти самопроизвольно, а только в сопряжении с процессом гидролиза аденоэозинтрифосфорной кислоты (АТФ), то есть за счет затраты энергии, запасенной в макроэргических связях АТФ.



Рис. 2.9. Схема активного транспорта

Активный транспорт веществ через биологические мембранны имеет огромное значение. За счет активного транспорта в организме создаются градиенты концентраций, градиенты электрических потенциалов, градиенты давления и т.д., поддерживающие жизненные процессы, то есть с точки зрения термодинамики активный перенос удерживает организм в неравновесном состоянии, поддерживает жизнь.

Существование активного транспорта веществ через биологические мембранны впервые было доказано в опытах Уссинга (1949 г.) на примере переноса ионов натрия через кожу лягушки (рис. 2.10).