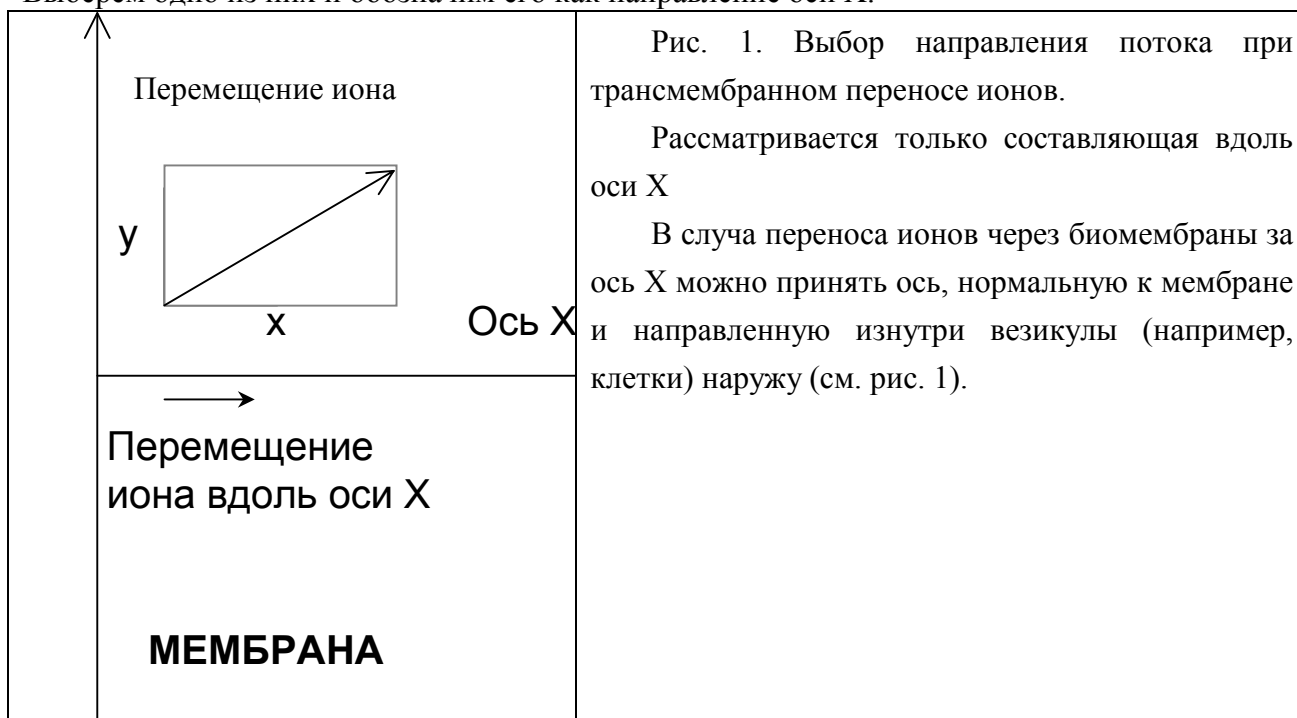


Лекция 3. Диффузия как результат "случайных блужданий" частиц

Перемещение иона в мембране

Случайные тепловые движения молекул приводят к тому, что вещества переносятся из области более высоких концентраций в область более низких. Это и есть диффузионный перенос.

Обычно процесс диффузии рассматривают как результат случайных блужданий частицы (молекулы или иона) под влиянием тепловых соударений с молекулами окружающей среды. Частица под влиянием тепловых соударений с окружающими молекулами совершает хаотические скачки. Они происходят, разумеется, в любом направлении, а следовательно перемещение частицы при каждом скачке представляет собой вектор, который, как и всякий вектор может быть представлен в виде суммы составляющих по трём направлениям. Выберем одно из них и обозначим его как направление оси X.



Как же перемещается ион в толще липидного слоя мембраны?

В разделе 1 говорилось о том, что такое перемещение возможно благодаря перестройке конфигурации жирнокислотных цепей и образованию нового "кинка". Ион движется, как бы перескакивая от кинка к кинку. как это изображено на рис.2.

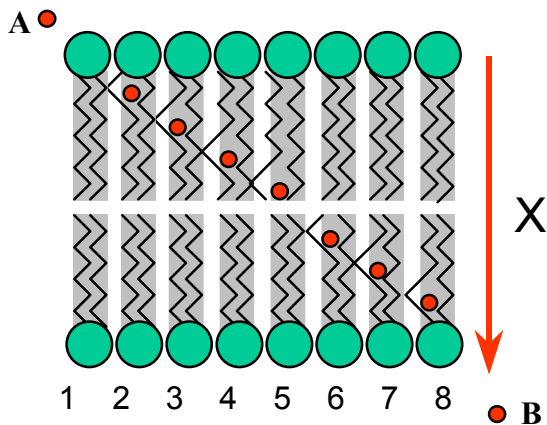


Рис.2. Движение иона поперёк мембраны путём перескакивания из одного "кинка" в другой.

Ион движется в направлении X.

На рисунке показаны *не разные молекулы фосфолипидов* в бислое, а *разные стадии* процесса переноса иона поперёк мембраны.

2-8 -изменение во времени положения иона в мембране.

Причина образования новых кинков и скачков иона - тепловые удары окружающих молекул.

Понятно, что не всякое взаимодействие с окружающими молекулами вызывает изменение координаты нашей частицы. Чтобы раздвинуть цепи жирных кислот и перескочить в новую петлю, молекула должна обладать достаточной кинетической энергией. В сплошной среде, такой как липидный слой мембраны, ион находится как бы в потенциальной яме. Выскочить из неё можно только преодолев определённый энергетический барьер (см.рис.3). Однако в результате хаотического теплового движения окружающих молекул и самого иона время от времени становится возможен перескок частицы из одной "ямы" в другую, соседнюю "яму". Вероятность такого перескока зависит от глубины ямы и температуры, о чём будет подробнее сказано в разделе 4.

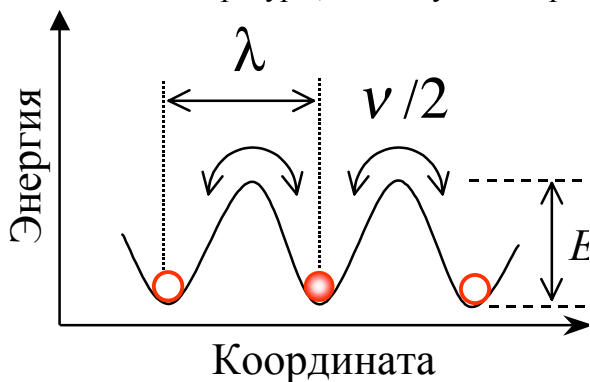


Рис. 3. Схема переноса ионов в мембране в результате случайных скачков иона между энергетическими "ямами".

Введём следующие обозначения:

v - частота перескоков частицы в соседнее устойчивое положение, с. Слева направо каждую секунду частица будет "прыгать" в среднем $(v/2)$ раз; столько же скачков каждая частица сделает в среднем справа налево.

λ - расстояние между двумя соседними энергетическими "ямами", т.е. длина пробега молекулы при каждом "скачке".

Представим себе, что через мембрану мы провели плоскость S , нормальную к оси X (см. рис. 4).

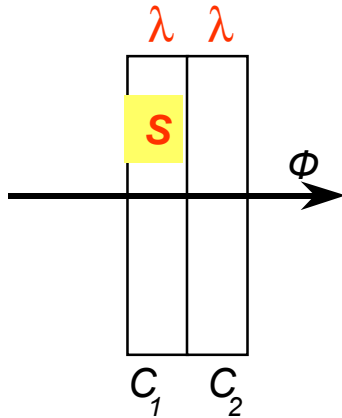


Рис.4. Диффузионный поток ионов через мембрану.

S - площадь нормальная к направлению потока, λ - длина пробега молекулы при каждом скачке. C_1 и C_2 - молярные концентрации иона слева и справа от мембраны в слоях толщиной λ .

Каждую секунду слева направо будет переноситься все частицы в объеме λS , что соответствует $C_1 S \lambda (n/2)$ киломолей вещества, где C_1 - концентрация вещества слева от плоскости S , кмоль/м³; λ - длина пробега молекулы при каждом "скачке". Это и будет *однонаправленный поток* ионов через площадь S :

$$\Phi = C_1 S \lambda \frac{v}{2} \quad (1)$$

Аналогичным образом находим однонаправленный поток частиц (например, ионов K^+) справа налево

$$\Phi = C_2 S \lambda \frac{v}{2} \quad (2)$$

Разница между этими потоками даёт нам общую величину потока ионов в направлении оси X :

$$\Phi = S \lambda \frac{v}{2} (C_1 - C_2); J = \lambda \frac{v}{2} (C_1 - C_2) \quad (3)$$

Последнее уравнение заслуживает того, чтобы задержать на нём наше внимание. Казалось бы, как может случайное перемещение каждой частицы приводить к направленному суммарному потоку ионов? А между тем, всё дело в концентрациях. Ионы уходят из области с большей концентрацией в область с меньшей концентрацией именно в силу совершенно хаотического движения каждой частицы. Статистика оказывается движущей силой потока.

К сожалению, точное значение средней концентрации в тонких слоях, прилегающих к плоскости S , неизвестны, как и их разность $(C_1 - C_2)$. Чтобы выйти из положения, заменим отношение $(C_1 - C_2)/\lambda$ на производную функцию (dc/dx) ; в результате получаем:

$$J = -\lambda^2 \frac{v}{2} \left(\frac{C_2 - C_1}{\lambda} \right) = -\left(\lambda^2 \frac{v}{2} \right) \frac{dC}{dx} \quad (4)$$

Это уравнение стоит сравнить с хорошо известным из физики эмпирическим уравнением диффузии (которое описывает так называемый первый закон Фика):

$$J = -D \frac{dc}{dx} \quad (5)$$

Мы видим, что эмпирический коэффициент D на самом деле зависит всего-то от частоты "перескоков" молекулы (ν) и расстояния (λ), на которое молекула "прыгает" при каждом перескоке.

$$D = \lambda^2 \frac{\nu}{2} \quad (6)$$

Поток ионов через мембрану. Проницаемость

Величина (dc/dx) , входящая в уравнение 5, не поддаётся непосредственному экспериментальному определению; в самом деле, как нам измерить *градиент концентрации* иона внутри липидного слоя мембраны? Чтобы перейти к величинам, измеряемым в опыте, нужно решить дифференциальное уравнение 5, т.е. провести разделение переменных и интегрирование. Эту процедуру можно осуществить при одном важном условии: одинаковости плотности потока при различных координатах плоскости S , через которую проходит поток.

Подумаем о физическом смысле такого постоянства потока. Если добавить в среду, омывающую клетку, какое-нибудь новое соединение (или изменить концентрацию одного из имеющихся), то *в первый момент* градиент концентрации (dc/dx) возникнет только около внешней поверхности мембраны и только там "хлынет" поток ионов в мембрану. Но затем поток установится, приняв некоторое постоянное значение, и величина потока в разных "срезах" мембраны будет одинаковой. Найдем зависимость величины такого установившегося во времени потока от концентраций ионов у левой C_{m1} и правой C_{m2} границ мембраны. Для этого проинтегрируем уравнение 5, предварительно разделив переменные:

$$J = -D \frac{dc}{dx} ; JDdx = -dc ; JD(l - 0) = -(C_{m2} - C_{m1}) \quad (7)$$

Откуда:

$$J = \frac{D}{l}(C_{m1} - C_{m2}) \quad (8)$$

Увы, концентрации ионов внутри мембраны, хотя бы и на границе с водной фазой (C_{m1} и C_{m2}), нам неизвестны; однако их можно найти, если известны концентрации ионов в окружающей водной среде (C_1 и C_2 , см.рис.5))

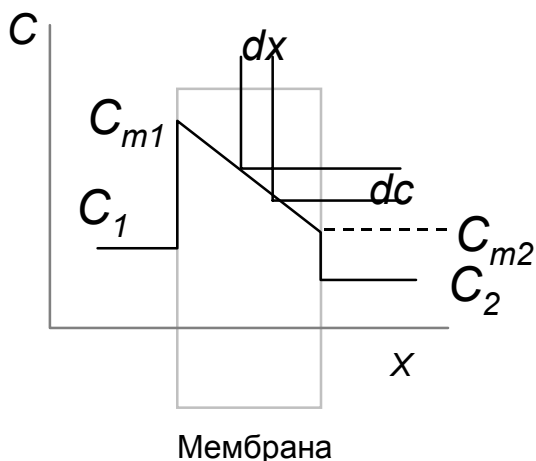


Рис.5. Концентрационный профиль мембраны, т.е. зависимость концентрации иона от координаты оси X, нормальной к плоскости мембраны. C_{m1} и C_{m2} - концентрации иона в мембране на границе с водной фазой. C_1 и C_2 - концентрации иона в водной фазе у границ с мембраной.

Градиент концентрации иона - это тангенс угла наклона концентрационной кривой в данном месте мембраны (т.е. при данном X).

Можно считать, что ионы распределяются между фазами по закону:

$$\frac{C_{m1}}{C_1} = \frac{C_{m2}}{C_2} = K \quad (9)$$

где K - коэффициент распределения иона между мембранной и водной фазами. Очевидно, что данное уравнение предполагает, что мембрана симметрична в том смысле, что коэффициенты распределения ионов одинаковы на обеих границах мембраны.

Подставив величины C_{m1} и C_{m2} из уравнения 9 в уравнение 8, получаем окончательно:

$$J = \frac{DK}{l}(C_1 - C_2) \quad (10)$$

Это уравнение аналогично известному второму закону Фика:

$$J = P(C_1 - C_2) \quad (10)$$

где эмпирический коэффициент P называют коэффициентом проницаемости или просто проницаемостью.

Итак:

$$P = \frac{DK}{l} \quad (11)$$

Связь коэффициента проницаемости с другими величинами в последнем уравнении полна глубокого физического смысла. В самом деле проницаемость:

1. Прямо пропорциональна коэффициенту диффузии иона D в веществе мембраны. Последняя величина связана с геометрическими размерами иона и вязкостью мембраны. Для сферических частиц коэффициент диффузии связан с вязкостью среды η и радиусом иона r уравнением Стокса:

$$D = kT / 6\pi\eta r \quad (12)$$

В более вязкой среде диффузия затруднена, и проницаемость вязкой мембраны ниже, чем проницаемость мембраны с более "жидким", или лучше сказать, более текучим липидным слоем.

2. Прямо пропорциональна коэффициенту распределения иона K в системе мембрана/вода, т.е. гидрофобности иона. Поэтому жирорастворимые лекарства проникают в клетки в общем-то лучше, чем водорастворимые.

3. Обрато пропорциональна толщине мембраны l .

Роль примембранных слоёв воды

Проницаемость мембран для многих веществ ограничена не только липидным бислоем и даже не только всей белково-липидной мембраной, но и прилегающими к мембране неперемешивающимися слоями воды.

Обратимся к рисунку 6.

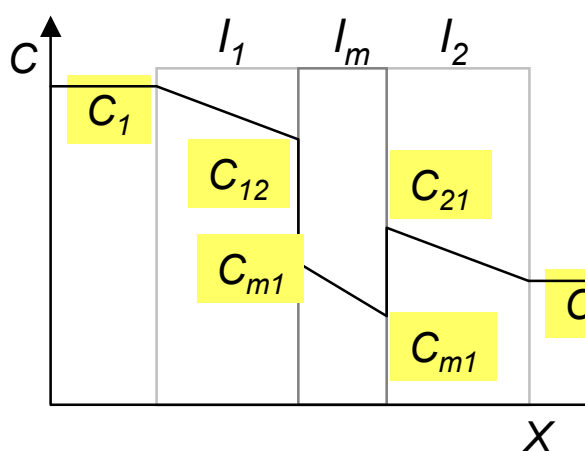


Рис.6. Поток ионов через мембрану с прилегающими неперемешивающимися слоями воды.

C - концентрации иона;

X - координата.

l_1 и l_2 - толщина слоёв примембранной воды. C_1 и C_2 - концентрации иона в водной фазе.

На этом рисунке дана зависимость концентрации иона C от его координаты X . Концентрации иона в различных участках системы обозначены следующим образом:

C_1 - в перемешивающемся водном растворе слева от мембраны, а также в неперемешивающемся водном слое у левой его границы;

C_{12} - в неперемешивающемся водном слое слева от мембраны у его правой границы;

C_{m1} и C_{m2} - в мембране у её левой и правой границ;

C_{21} - в неперемешивающемся водном слое справа от мембраны у его левой границы;

C_2 - в перемешивающемся водном растворе справа от мембраны, а также в неперемешивающемся водном слое у его правой границы;

Толщина левого неперемешивающегося слоя воды обозначена как l_1 , правого - как l_2 , толщина мембраны как l_m . Потоки вещества через левый и правый примембранный слой воды равны, в соответствии с уравнением 10:

$$J_1 = P_1(C_1 - C_{12}); J_2 = P_2(C_{21} - C_2) \quad (13)$$

А поток через саму мембрану равен:

$$J_m = P_m(C_{m1} - C_{m2}) \quad (14)$$

В стационарных условиях (т.е. при установившемся, постоянном во времени потоке):

$$J_1 = J_m = J_2 \quad (15)$$

(принцип непрерывности потока), откуда:

$$J = P_1(C_1 - C_{12}) \Rightarrow \frac{J}{P_1} = C_1 - C_{12}$$

$$J = P_2(C_{21} - C_2) \Rightarrow \frac{J}{P_2} = C_{21} - C_2 \quad (16)$$

$$J = P_m(C_{m1} - C_{m2}) \Rightarrow \frac{J}{P_m} = C_{m1} - C_{m2}$$

Сложив эти уравнения, получим:

$$\frac{J}{P_1} + \frac{J}{P_2} + \frac{J}{P_m} = C_1 - C_2 \quad (17)$$

С другой стороны, если рассматривать систему из мембраны вместе с прилегающими слоями воды как единое целое, то поток ионов через эту систему J будет связан с проницаемостью системы в целом P уже известным нам уравнением $J = P(C_1 - C_2)$; откуда:

$$\frac{J}{P} = C_1 - C_2 \quad (18)$$

Сопоставив уравнения 17 и 18, получаем:

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_1} + \frac{1}{P_2} + \frac{1}{P_m} \quad (19)$$

Величину $1/P$ назовем **сопротивлением потоку**. Теперь становится ясным физический смысл уравнения 19:

Сопротивление потоку в системе последовательных элементов равно сумме сопротивлений каждого из них.

Иначе говоря величины $1/P$ ведут себя так же, как последовательно соединенные электрические сопротивления.

Относительный вклад мембраны и примембранной воды в общее сопротивление потоку

Обозначим отношение сопротивления потоку для двух примембранных слоёв воды к сопротивлению потоку самой мембраны через, скажем, букву α :

$$\alpha = \left(\frac{1}{P_1} + \frac{1}{P_2} \right) : \frac{1}{P_m} = \frac{P_m}{P_a} \quad (20)$$

Эта величина может служить количественной характеристикой вклада примембранной воды в сопротивление потоку. От чего же она зависит?

Чтобы это понять, заменим в последнем уравнении P на DK/l (см. уравнение 11). Получаем:

$$\alpha = \frac{D_m K}{D_a} \cdot \frac{l_a}{l_m} \quad (21)$$

(K для водных слоёв равен, естественно, единице). Если жидкость внутри клетки и в межклеточной среде интенсивно движется, то толщина примембранных слоев воды ($l_a = l_1 + l_2$) имеет порядок величины 0,3-1 мкм, т.е. превышает толщину самой мембраны

более чем в 100-300 раз. С другой стороны, вязкость мембраны примерно в 10-100 раз выше вязкости воды, а значит, коэффициенты диффузии иона в воде и в мембране относятся друг к другу как 30-100 к единице.

Подставив эти, весьма впрочем приблизительные, цифры в уравнение 21, мы получим интересную формулу:

$$\frac{K}{100} \cdot 100 \leq \alpha \leq \frac{K}{10} \cdot 300 \quad (22)$$
$$\alpha \cong K(1 \div 30)$$

Оказывается, всё дело в коэффициенте распределения вещества в системе мембрана/вода, т.е. решающую роль играет *липофильность* иона (молекулы). В случае таких ионов, как K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , K имеет значения более 10^{-14} , и примембранные слои жидкости *практически не влияют* на общую проницаемость: основная барьерная функция принадлежит липидному бислою. В случае нейтральных молекул, таких как, скажем, кислород, K близко к единице, и роль примембранных слоёв воды становится заметной.

Особенно резко начинает сказываться сопротивление потоку водных слоев, если жидкость в клетке и межклеточной среде плохо перемешивается. В этом случае l_a возрастает до 20-500 мкм и основным препятствием на пути диффундирующего газа становятся водные слои. Поскольку движение жидкости в клетке и вне её зависит от тканевого метаболизма, может сложиться не совсем верное впечатление, что перенос молекул через мембрану - процесс активный, зависящий от энергетики клетки. На самом же деле, активным является перемешивание жидкостей, а сам по себе перенос кислорода через мембрану и примембранные слои воды - процесс чисто диффузионный и затраты энергии не требует.

Вопросы к зачету

- Выведите уравнение диффузии в сплошной среде.
- Какова связь коэффициента диффузии с вязкостью среды?
- Выведите уравнение потока молекул через мембрану.
- Какова связь проницаемости с вязкостью вещества мембраны. Приведите все необходимые уравнения и объясните их физический смысл.
- Какова связь между проницаемостью мембраны и проницаемостью примембранных слоев воды. Выведите необходимые уравнения и объясните их физический смысл.
- Для каких молекул или ионов основным барьером служит липидный бислой и почему?