

Федеральное государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего образования  
«Сибирский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**И.В. Петрова, Ю.Г. Бирулина, А.В. Носарев, Т.Н. Зайцева,  
В.С. Гусакова, С.В. Гусакова**

# **СБОРНИК ПРАКТИЧЕСКИХ РАБОТ ПО БИОФИЗИКЕ**

**УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ**

**ТОМСК**  
Издательство СибГМУ  
2022

УДК 577.3(075.8)  
ББК 52.57я73  
С 232

Авторы:

**Петрова И.В., Бирулина Ю.Г., Носарев А.В., Зайцева Т.Н.,  
Гусакова В.С., Гусакова С.В.**

**Сборник практических работ по биофизике:**  
С 232 учебное пособие / И.В. Петрова и [др.]. – Томск: Изд-во  
СибГМУ, 2022. – 54 с.

Данное учебное пособие содержит описание практических работ, направленных на освоение основных физических и физико-химических закономерностей протекания биологических процессов в клетке и в организме в целом, овладение современными биофизическими и медико-биологическими методами исследования для решения профессиональных задач. В каждой работе представлено теоретическое обоснование используемого метода, подробное изложение подходов для выполнения исследования. В пособии содержатся вопросы, тестовые задания и ситуационные задачи для самоконтроля.

Пособие подготовлено в соответствии с Федеральным государственным образовательным стандартом высшего профессионального образования для студентов, обучающихся по основной профессиональной образовательной программе высшего образования – программе специалитета по направлению подготовки 31.05.02. – Педиатрия.

**УДК 577.3(075.8)  
ББК 52.57я73**

**Рецензент:**

**Ласукова Т.В.** – доктор биол. наук, профессор кафедры биологии ТГПУ.

*Утверждено и рекомендовано к печати Учебно-методической комиссией медико-биологического факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 3 от 02 июня 2022 г.).*

© Издательство СибГМУ, 2022  
© Петрова И.В., Бирулина Ю.Г., Носарев А.В.,  
Зайцева Т.Н., Гусакова В.С., Гусакова С.В., 2022

# ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>ГЛАВА 1. БИОМЕМБРАНОЛОГИЯ</b> .....	5
1.1. Спектрофотометрические свойства белков .....	5
1.2. Проницаемость биологических мембран для осмотически активных веществ .....	10
1.3. Поверхностно-активные свойства липидов .....	15
1.4. Физико-химические свойства эритроцитарной мембраны .....	20
<b>ГЛАВА 2. ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ</b> ....	24
2.1. Электропроводность биологических тканей для постоянного тока.....	24
2.2. Дисперсия электропроводности биологических тканей для переменного тока .....	30
2.3. Возбудимость скелетной мускулатуры человека.....	37
Тестовые задания.....	41
Эталоны ответов на тестовые задания.....	46
Ситуационные задачи .....	47
Ответы на ситуационные задачи .....	51
Рекомендуемая литература .....	53

## ВВЕДЕНИЕ

Биофизика – это наука, изучающая физические и физико-химические явления в живых организмах, структуру и свойства биополимеров, влияние различных физических факторов на живые системы. Биофизика рассматривается как наука о наиболее простых и фундаментальных взаимодействиях, лежащих в основе биологических процессов.

Достижения в области биофизики мембран имеют первостепенное значение для медицинской науки и практики, так как известно, что нарушение работы мембранных систем является одной из причин нарушений функционирования клеток. Именно нарушение функционирования мембранных структур приводит к биологической смерти клеток при гипоксии, интоксикациях, механических повреждениях тканей и т.д. Доказано изменение свойств мембранных структур при многих заболеваниях нервной системы, развитии атеросклероза и ишемической болезни сердца, гепатитах, заболеваниях почек. Наиболее чувствительной частью мембранных структур к неблагоприятным воздействиям извне является липидный слой, выполняющий в мембранах функцию барьера для ионов и полярных молекул, а также структурной основы функционирования ферментов, рецепторов и каналов. Значения различных показателей, характеризующих состояние мембран, представляют собой ценную диагностическую информацию. Многие нарушения функционирования клеток обусловлены утратой барьерной функции их мембран, в результате чего липидный слой мембраны становится проницаемым для многих ионов и полярных молекул, обычно не проникающих через эту мембрану.

Знание механизмов функционирования и нарушения работы мембранных систем дает возможность применения большого числа разнообразных лекарственных средств для коррекции работы мембранных каналов и рецепторов. Методы, разработанные для фундаментальных исследований в области биофизики мембран, нашли применение в медицинской практике.

Настоящее учебное пособие предназначено для использования студентами, обучающимися по основной профессиональной образовательной программе высшего образования – программе специалитета по направлению подготовки 31.05.02. – Педиатрия.

# ГЛАВА 1

## БИОМЕМБРАНОЛОГИЯ

### 1.1. Спектрофотометрические свойства белков

**Цель работы:** исследовать спектры поглощения ароматических аминокислот и белка трипсина в нормальных условиях и при действии денатурирующих агентов.

**Материалы и оборудование:** спектрофотометр, кварцевые кюветы, мерные стеклянные пробирки, лабораторные пипетки, раствор NaOH 0,1 н, дистиллированная вода, навески трипсина, тирозина, триптофана.

**Вопросы для самоподготовки:**

1. Спектры поглощения белков.
2. Принцип метода спектрофотометрии.

### ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

В современной биофизике находят широкое применение спектральные методы изучения биологических объектов. Важную информацию о структуре биополимеров позволяет получить ультрафиолетовая (УФ) спектрофотометрия.

Основным законом абсорбционной спектрофотометрии является закон Ламберта–Бера:

$$I = I_0 \cdot e^{-\varepsilon \cdot c \cdot l},$$

где  $I$  – интенсивность света, вышедшего из раствора,  $I_0$  – интенсивность падающего света,  $e$  – экспонента,  $\varepsilon$  – молярный коэффициент поглощения, который характеризует поглощательную способность данного вещества,  $c$  – концентрация раствора,  $l$  – длина оптического пути (толщина кюветы).

Таким образом, закон Ламберта–Бера устанавливает, что интенсивность падающего света экспоненциально уменьшается в зависимости от концентрации раствора и длины оптического пути.

На практике часто используют закон Ламберта–Бера в логарифмической форме. Для этого вводится понятие оптической плотности рас-

твора. Оптическая плотность ( $D$ ) представляет собой десятичный логарифм отношения начальной интенсивности ( $I_0$ ) к интенсивности света, вышедшего из образца ( $I$ ):

$$D = \lg \frac{I_0}{I}$$

В логарифмической форме закон Ламберта–Бера устанавливает линейную зависимость между концентрацией раствора ( $c$ ) и оптической плотностью ( $D$ ) при постоянной длине оптического пути ( $l$ ):

$$D = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Свет разных длин волн поглощается веществом неодинаково. Зависимость оптической плотности или молярного коэффициента поглощения от длины волны называется спектром поглощения.

Условно весь спектральный диапазон разделяют на ультрафиолетовую, видимую и инфракрасную области. УФ-область лежит в интервале длин волн от 100 до 400 нм и разделяется на вакуумную (100–200 нм), среднюю (200–300 нм) и близкую (300–400 нм). Спектры поглощения белков лежат в средней УФ-области. Эмпирически найдены корреляции между химическим строением молекул и их спектрами. Наличие циклических структур с делокализованными  $\pi$ -электронами обуславливает поглощение УФ-света. Для белка характерно наличие двух максимумов поглощения: один на границе вакуумной области (200–210 нм), а второй – в средней УФ-области (длинноволновый максимум поглощения). В вакуумной УФ-области поглощают все аминокислоты, а также пептидные связи. Длинноволновый максимум поглощения (240–300 нм) белков обусловлен поглощением трех ароматических аминокислот – триптофана, тирозина и фенилаланина. Поглощение света вызывает  $\pi$ – $\pi^*$ -электронными переходами в плоскости ароматического кольца.

Спектры поглощения белков являются наиболее удобными и доступными для их изучения, поскольку именно в последних отражаются структурные особенности молекул (оптические свойства).

Спектры поглощения однокомпонентных неокрашенных белков (сывороточный и яичный альбумины, гамма-глобулин, трипсин, пепсин и др.) располагаются в области от 200–290 нм, включая две полосы поглощения: одну длиной волны 220 нм, вторую – длиной волны 278 нм. Полоса поглощения длиной волны 275 нм обусловлена поглощением энергии света электронами ароматических аминокислот (триптофан, тирозин, фенилаланин). В области 240–300 нм главный

вклад в спектр дает триптофан даже при относительно невысоком содержании в белке и в значительной степени определяет характер его спектра поглощения, так как коэффициент молярного поглощения его индольного ядра в 4 раза превышает таковой для тирозина и почти в 30 раз для фенилаланина. Светопоглощение в самой коротковолновой области спектра (короче 220 нм) связано со светопоглощением хромофора пептидной группы белковой молекулы.

Спектрофотометрия позволяет определять количество тирозиновых и триптофановых остатков в белках. В нейтральных растворах поглощение белка при 280 нм представляется как сумма оптических плотностей тирозина и триптофана. Поскольку максимумы спектров поглощения этих аминокислот почти совпадают, измерить содержание этих аминокислот в белке при нейтральном рН трудно. В щелочной среде (при рН > 12) наблюдается спектральное разделение тирозинового и триптофанового поглощения. На этом основании Гудвин и Мортон предложили метод определения содержания тирозиновых и триптофановых остатков в белке.

Согласно метода Гудвина и Мортон, берется раствор белка с известной концентрацией в 0,1 н растворе щелочи. С помощью спектрофотометра находится оптическая плотность раствора белка на двух длинах волн 280 и 294 нм, а затем определяются молярные коэффициенты экстинкции ( $\epsilon$ ):

$$\epsilon_{280} = \frac{D_{280}}{c \cdot l}, \quad \epsilon_{294} = \frac{D_{294}}{c \cdot l}$$

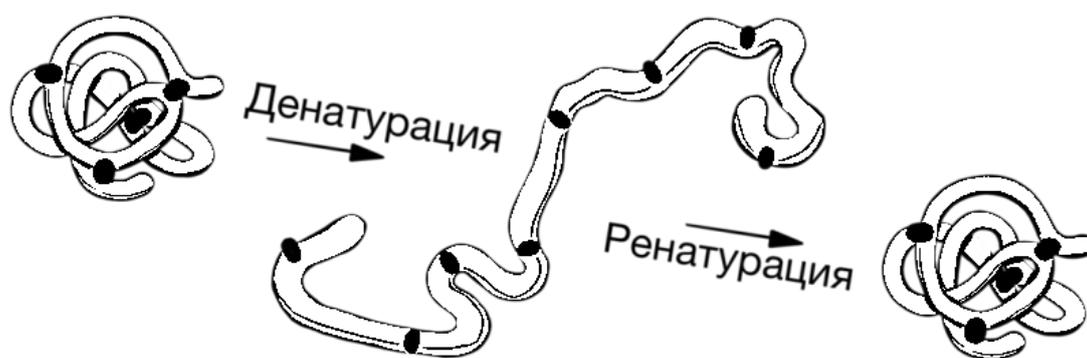
Число молей тирозина ( $M_{тир}$ ) и триптофана ( $M_{три}$ ) на моль белка можно определить по формулам:

$$M_{тир} = 10^{-3} (0,592\epsilon_{294} - 0,263\epsilon_{280}),$$

$$M_{три} = 10^{-3} (0,263\epsilon_{280} - 0,170\epsilon_{294})$$

Известно, что третичная структура белка по сравнению с его вторичной структурой, более чувствительна к внешним воздействиям, вызванным присутствием слабых окислителей и некоторых других реагентов, изменением природы растворителя, ионной силы, рН среды, температуры, воздействием облучения. Явление, при котором под действием внешних факторов разрушается нативная структура белка, называется денатурацией. Денатурацию белков можно вызвать нагреванием до 60–80 °С или действием других агентов, разрушающих не-

ковалентные связи в нативной структуре белка. Денатурация происходит на поверхности раздела фаз, в щелочных или кислых средах (например, денатурация белка пищи в желудке под действием соляной кислоты), при действии ряда органических соединений – спиртов, фенолов и др. Часто для денатурирования белков используют мочевины или гуанидинхлорид. Такие вещества образуют водородные связи с амино- или карбонильными группами пептидного остова и с некоторыми группами радикалов аминокислот, подменяя собственные внутримолекулярные связи в белке, вследствие чего вторичная и третичная структуры изменяются. При денатурации утрачивается биологическая активность белков. Вследствие денатурации белка изменяется и его спектр поглощения. Если при денатурации первичная структура белка сохраняется, то денатурация может иметь обратимый характер. Процесс, обратный денатурации, называется ренатурацией (рис. 1).



*Рис. 1. Денатурация и ренатурация белка*

Процесс ренатурации протекает самопроизвольно, и это свидетельствует о том, что организация полипептидной цепи белка в пространстве определяется его первичной структурой. По измененному спектру поглощения белка можно судить о процессах денатурации или ренатурации.

## ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### Задание 1.

Приготовьте водные растворы триптофана (в концентрации 0,0147 мг/мл), тирозина (в концентрации 0,053 мг/мл) и зарегистрируйте их спектры поглощения в области от 210 до 320 нм с шагом 5 нм.

По полученным значениям оптических плотностей ( $D$ ) найдите молярные коэффициенты экстинкции триптофана и тирозина при длинах волн 250 и 280 нм. Учтите, что молекулярные массы триптофана – 204,2 г/моль, тирозина – 181,2 г/моль.

Приготовьте растворы триптофана (в концентрации 0,0147 мг/мл), тирозина (в концентрации 0,053 мг/мл) в 0,1 н растворе NaOH, зарегистрируйте спектры поглощения и сравните со спектрами поглощения нейтральных растворов в воде.

### Задание 2.

Приготовьте водные растворы трипсина в концентрациях 0,1 и 0,2 мг/мл, зарегистрируйте спектр поглощения в области от 210 до 320 нм с шагом 5 нм.

Приготовьте растворы трипсина в концентрациях 0,1 и 0,2 мг/мл в 0,1 н растворе NaOH, зарегистрируйте спектр поглощения в области от 210 до 320 нм с шагом 5 нм.

Определите оптическую плотность растворов на 280 и 294 нм, а затем молярные коэффициенты экстинкции по приведенным выше формулам. Найдите количество триптофановых и тирозиновых остатков по методу Гудвина и Мортонна. Учтите, что молекулярная масса трипсина 23000 Да.

### Задание 3.

Приготовьте водный раствор трипсина в концентрации 0,1 мг/мл. Зарегистрируйте спектр поглощения раствора в интервале длин волн 200–300 нм. Найдите длину волны, на которую приходится максимум поглощения.

Нагрейте термостат до 70 °С и поместите в него исследуемый раствор белка на 40 мин. Измерьте оптическую плотность термомодифицированного раствора белка. Сделайте выводы об оптических свойствах раствора трипсина, модифицированного термовоздействием.

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Принцип метода Гудвина и Мортонна.
2. Хромофорные группы белков.
3. Термическая денатурация белков.

## 1.2. Проницаемость биологических мембран для осмотически активных веществ

**Цель работы:** определить константу проницаемости биологической мембраны для метиленового синего.

**Материалы и оборудование:** фотоэлектроколориметр КФК-3КМ, кварцевые кюветы, мерные стеклянные пробирки, лабораторные пипетки, химические стаканы, цилиндры от шприца, хирургический шовный материал, набор препаровальных инструментов, водный раствор метиленового синего 0,5 %, кожа лягушки или стенка кишечника.

**Вопросы для самоподготовки:**

1. Организация биологической мембраны.
2. Транспортные процессы в многомембранных структурах.

### ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Биологические структуры относятся к открытым термодинамическим системам, постоянно обменивающимся в течение жизни с окружающей средой не только энергией, но и веществом. Роль биологических мембран – сопряжение и регуляция потоков энергии, вызывающих и сопровождающих процесс транспорта. Поэтому, транспорт веществ через биологические мембраны – необходимое условие для существования жизни. Нарушение мембранного транспорта ведет к возникновению различного типа клеточных дисфункций и патологий.

В зависимости от потребностей клетки транспорт веществ осуществляется или по, или против концентрационного градиента. Способ проникновения через мембрану в значительной степени определяется свойствами вещества. Низкомолекулярные нейтральные вещества, такие, как газы, вода, аммиак, глицерин и мочевины, свободно диффундируют через биомембраны. Однако с увеличением размера молекулы теряют эту способность. К примеру, клеточные мембраны непроницаемы для глюкозы и других сахаров. Проницаемость биомембран зависит также от полярности веществ. Неполярные вещества, такие, как бензол, этанол, диэтиловый эфир и многие другие, способны проникать в клетку в результате диффузии.

Напротив, для гидрофильных, особенно заряженных веществ, мембрана непроницаема. Однако во многих случаях именно такие вещества необходимы для функционирования клетки, поэтому в живых

системах эволюционно сформировались специализированные транспортные системы для переноса таких веществ через мембрану.

Выделяют 5 разновидностей мембранного транспорта (рис. 2):

- пассивная диффузия;
- облегченная диффузия;
- первично-активный транспорт;
- вторично-активный транспорт;
- механизм, сопряженный с изменением структурной целостности мембран.

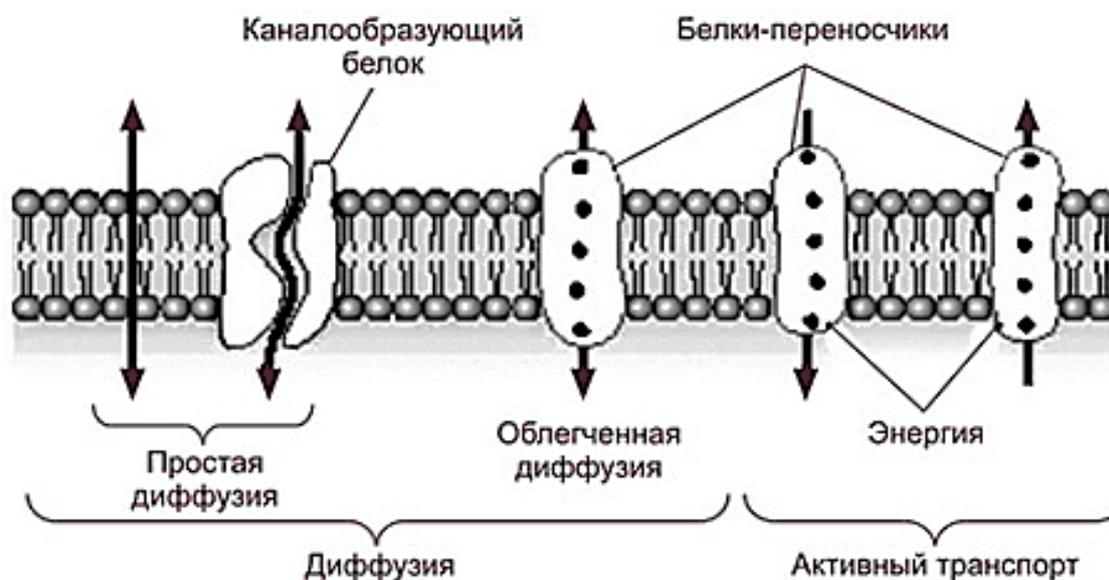


Рис. 2. Виды активного и пассивного транспорта через биологическую мембрану

Перенос веществ через биологические мембраны осуществляется с помощью различных механизмов и протекает в основном без нарушения структурной целостности мембран. Если транспорт сопровождается уменьшением свободной энергии, он протекает самопроизвольно и называется пассивным. *Пассивный транспорт* (пассивная или облегченная диффузия) происходит по направлению градиентов химического электрохимического) потенциала, результатом чего является уменьшение градиентов концентраций, если нет других процессов, которые обеспечивают их поддержание на постоянном уровне.

Кроме указанных видов транспорта в мембране имеют место также процессы, не связанные со специфическими структурами. К таковым относится неспецифическая диффузия. Неспецифическая диф-

фузия является процессом, не связанным со специфическими структурами – она осуществляется благодаря физико-химическим свойствам липидного бислоя.

*Активным транспортом* называют процесс переноса веществ или ионов против их концентрационных градиентов, который так или иначе обеспечивается энергией метаболических процессов. Активный транспорт бывает первично-активным и вторично-активным. В случае ионного транспорта, обеспечиваемого транспортными АТФазами (их называют также ионными насосами), энергодающей стадией является гидролиз АТФ. Такой процесс называется первично-активным транспортом. Если же энергия обусловлена градиентом ионов, созданным независимо, например, в процессе первично-активного транспорта, этот процесс называется вторично-активным транспортом. Специальные мембранные структуры обеспечивают пассивный и активный транспорт, в число которых входят каналы, переносчики и ферменты, осуществляющие перемещение ионов (веществ) против их концентрационного градиента.

Метиленовый синий традиционно используется в биологии для оценки функционального состояния живых тканей. Он является красителем, имеет вид тёмно-зеленых кристаллов с бронзовым блеском с молекулярной массой 350 Да и размерами молекул порядка 1,2 нм.

Проницаемость интактной (неповрежденной) биологической мембраны для данного красителя весьма мала. После ее обработки детергентами диффузия метиленового синего через мембрану значительно усиливается. В этом случае процесс переноса вещества осуществляется, в основном, по механизмам пассивного транспорта, хотя и не может быть сведен к простой диффузии.

Для количественной оценки проницаемости биомембран используется формула Коллендера–Берлунда:

$$\frac{dm}{dt} = PS(c_1 - c_2),$$

где  $dm/dt$  – скорость проникновения вещества (метиленового синего) через мембрану (мг/мин),  $P$  – константа проницаемости, зависящая от свойств мембраны, от параметров диффундирующего вещества (в частности, от размеров молекулы) и от температуры (см/мин),  $S$  – площадь мембраны, через которую происходит диффузия (см<sup>2</sup>),  $c_1$  и  $c_2$  – концентрация метиленового синего по разные стороны мембраны (мг/см<sup>3</sup>).

Из формулы следует, что  $P$  – физическая величина, численно равная массе вещества, проникшей в единицу времени через единичную площадь мембраны при разности концентраций вещества с обеих ее сторон, равной единице. Следовательно, константа проницаемости характеризует скорость прохождения молекул красителя через мембрану.

## ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### Задание 1.

Приготовьте препарат биологической мембраны в виде квадрата со стороной 2,5 см. Закрепите полученный препарат с помощью хирургической нити на цилиндре от шприца таким образом, чтобы мембрана образовывала «дно» цилиндра. Поместите подготовленный цилиндр с мембраной в химический стакан, заполненный дистиллированной водой в объеме 5 мл.

### Задание 2.

Приготовьте из исходного 0,5 % водного раствора метиленового синего растворы следующих концентраций: 0,1 %, 0,005 %, 0,004 %, 0,003 %, 0,002 %, 0,001 %. Заполните цилиндр с мембраной 0,01 % раствором метиленового синего в объеме 5 мл. Оставьте цилиндр на 40–45 мин для прохождения процесса диффузии.

В течение этого времени определите оптическую плотность приготовленных растворов метиленового синего на фотоэлектроколориметре при длине волны 660 нм. Полученные данные занесите в таблицу 1 и постройте калибровочный график (зависимость величины оптической плотности от концентрации раствора метиленового синего).

Таблица 1

*Оптическая плотность растворов метиленового синего*

Концентрация раствора, %	0,005	0,004	0,003	0,002	0,001	X
Оптическая плотность						

По истечении времени, требуемого для диффузии, уберите из стакана цилиндр с остатками раствора метиленового синего. Отберите из стакана определенный объем продиффундировавшего раствора мети-

ленового синего, определите его оптическую плотность на фотоэлектроколориметре при длине волны 660 нм. С помощью калибровочного графика определите концентрацию данного раствора ( $c_x$ , %).

### Задание 3.

Выполните математические расчеты, определив константу проницаемости ( $P$ ) биологической мембраны для метиленового синего по следующей формуле:

$$P = \frac{m}{\Delta c \cdot S \cdot t} = \frac{4m}{c_1 \cdot \pi \cdot d^2 \cdot t},$$

где  $m$  – масса метиленового синего (мг), продиффундировавшего через мембрану за время эксперимента ( $t$ , мин),  $\Delta c$  – разность концентраций метиленового синего по обе стороны мембраны (мг/см<sup>3</sup>),  $c_1$  – концентрация метиленового синего в цилиндре (мг/см<sup>3</sup>),  $S$  – площадь мембраны, через которую проходила диффузия (см<sup>2</sup>),  $d$  – диаметр цилиндра (см).

Для определения массы красителя ( $m$ ), продиффундировавшего через мембрану, выполнить следующие расчеты:

$$m = c_x \cdot V_0,$$

где  $m$  – масса метиленового синего (мг),  $c_x$  – концентрация раствора, получившего в результате диффузии (мг/мл),  $V_0$  – объем раствора в стакане (мл). Для расчетов необходимо перевести процентную концентрацию раствора в мг/мл.

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Виды пассивного транспорта через биологическую мембрану.
2. Механизмы активного транспорта через биомембрану.
3. Методы исследования транспортных процессов в клетке.

### 1.3. Поверхностно-активные свойства липидов

**Цель работы:** изучить влияние монослоя сурфактанта на изменение сил поверхностного натяжения жидкости.

**Материалы и оборудование:** препарат легких теплокровного животного (крысы, морской свинки или др.), набор препаровальных инструментов, весы Вильгельми–Ленгмюра, ванночка с подвижным барьером, ступка с пестиком, химические стаканы, воронка пластиковая, фильтровальная бумага, физиологический раствор (NaCl, 0,9 %).

**Вопросы для самоподготовки:**

1. Амфифильные свойства липидов.
2. Силы поверхностного натяжения в биологических системах.

#### ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Известно, что в поверхностном слое жидкости действует сила, стремящаяся сократить его площадь. Если значение поверхностного натяжения умножить на величину площади поверхности, полученная величина будет иметь размерность энергии и называться свободной поверхностной энергией. Как и всякая система, поверхность стремится иметь минимум энергии, а у чистой жидкости единственный путь для этого – сокращение самой поверхности. Однако, если в жидкости присутствуют вещества, способные уменьшить поверхностную энергию, они устремятся на поверхность, образуя поверхностную пленку. Такие вещества называются поверхностно-активными (ПАВ). При их невысокой концентрации могут формироваться адсорбированные мономолекулярные слои, в которых развивается поверхностное давление:

$$P = \sigma_{ж} - \sigma_{м},$$

где  $P$  – поверхностное давление,  $\sigma_{ж}$  – поверхностное натяжение чистой жидкости,  $\sigma_{м}$  – поверхностное натяжение жидкости при наличии мономолекулярной пленки.

При сжатии или растяжении величина поверхностного давления монослоя изменяется. В зависимости от этого варьирует и поверхностное натяжение. Чем больше сжимается пленка (повышается концентрация молекул в расчете на единицу площади поверхности), тем больше падает поверхностное натяжение монослоя, и тем больше ста-

новится поверхностное давление. Величина поверхностного натяжения для физиологического раствора и дистиллированной воды составляет  $72 \cdot 10^{-3}$  Н/м.

Подобный процесс имеет место в легочных альвеолах. Выстилающий изнутри альвеолы на границе воздух-жидкость монослой сурфактанта на выдохе стремится уменьшить действие сил поверхностного натяжения, приводя к увеличению поверхностного давления в монослое и препятствуя спадению альвеол. Сурфактант представляет собой комплекс фосфолипидов (85–90 %) и специфических сурфактант-ассоциированных белков (10 %, половину из которых составляют четыре специфических для сурфактанта протеина: SP-A, SP-B, SP-C и SP-D).

В легких сурфактант выполняет важные физиологические функции: понижая поверхностное натяжение, увеличивает растяжимость легких и тем самым снижает совершаемую при вдохе работу; обеспечивает стабильность альвеол, препятствуя их спадению на выдохе; препятствует трансудации жидкости на поверхность альвеол из плазмы капилляров легких. Дефицит сурфактанта приводит к расстройствам дыхания, например, респираторный дистресс-синдром новорожденных или острый респираторный дистресс-синдром у взрослых.

Альвеолу можно представить в виде полусферы, образованной упругой пленкой. При этом давление поверхностное давление, требуемое для раздувания ее стенки до определенного объема, будет зависеть от радиуса кривизны поверхности и величины поверхностного натяжения. Данные значения связаны уравнением Лапласа:

$$P = 2\sigma / r,$$

где  $P$  – поверхностное давление,  $\sigma$  – поверхностное натяжение жидкости,  $r$  – радиус альвеолы.

Таким образом, согласно уравнения Лапласа, чем меньше радиус альвеолы, тем более высокое поверхностное давление требуется для предотвращения ее полного коллапса.

Зависимость величины поверхностного натяжения сурфактанта от площади графически выражается замкнутой кривой (петля гистерезиса), площадь которой численно равна энергии, расходуемой на сжатие-растяжение монослоя. В ходе дыхательных экскурсий альвеолы ритмично уменьшают и увеличивают свою поверхность. При этом по-

верхностное давление в монослое сурфактанта претерпевает закономерные изменения. Способ Вильгельми–Ленгмюра позволяет исследовать эту закономерность.

## ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### Задание 1.

Изучите устройство и принцип работы весов Вильгельми–Ленгмюра. Они представляют собой видоизмененные торсионные весы (тип ВТ-500), где вместо чашечки на тонком стержне подвешена тонкая стеклянная (кварцевая, тефлоновая или платиновая) пластинка, к которой подводится кювета с жидкостью. При соприкосновении поверхности с пластинкой последняя в результате смачивания втягивается внутрь жидкости. Для отрыва пластинки от жидкости требуется приложить отрывающее усилие  $F$ , связанное с силой поверхностного натяжения соотношением:

$$F = 2\sigma(l + a),$$

где  $F$  – сила, затрачиваемая на отрыв частично погруженной в жидкость пластинки, от поверхности жидкости,  $\sigma$  – поверхностное натяжение жидкости,  $l$  – ширина пластинки,  $a$  – толщина пластинки.

Если известны размеры пластинки и величина разрывающего усилия  $F$ , имеем:

$$\sigma = \frac{F}{2(l + a)}$$

Величину силы можно определить непосредственно при помощи торсионных весов, проградуировав шкалу в динах. Цена деления весов – 1 мг или 0,98 дин. При подвешивании покровного стекла размером 2,2·2,2·0,01 см к рычагу торсионных весов можно определить цену их деления в единицах поверхностного натяжения (дин/см·см):

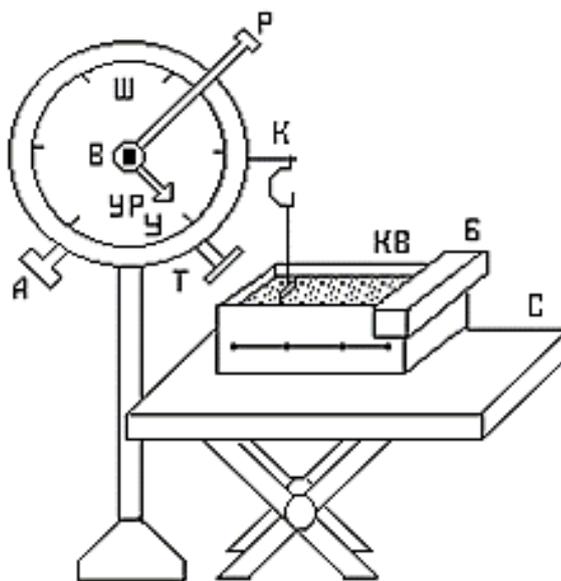
$$k = \frac{0,98}{2(2,2 + 0,01)} = 0,22$$

Тогда величина поверхностного натяжения может быть определена по формуле:

$$\sigma = kn = 0,22n,$$

где  $n$  – число делений на весах.

Внешний вид весов Вильгельми–Ленгмюра изображен на рисунке 3.



*Рис. 3. Общий вид весов Вильгельми–Лэнгмюра:*

А – арретир, закрепляющий коромысло весов, Б – барьер, В – торсионные весы, К – коромысло, КВ – кювета, Р – рычаг, С – столик, Т – таррировочная головка, У – указатель веса, УР – указатель равновесия, Ш – шкала

Перед началом работы весы уравнивают таким образом, чтобы указатель веса находился в нулевом положении, а указатель равновесия был совмещен с чертой, отмечающей положение равновесия. Весы монтируют на штативе по горизонтальному уровню. Парафинированную кювету с подвижным барьером помещают на подъемный столик и заполняют физиологическим раствором. Барьер устанавливают в точке 100 % на шкале кюветы.

### Задание 2.

Приготовьте экстракт из ткани легкого животного. Для этого ткань залейте небольшим количеством физиологического раствора, разотрите в ступке и профильтруйте в стакан. Полученный фильтрат вылейте в кювету и разведите таким количеством физиологического раствора, чтобы подвижный барьер касался поверхности жидкости. Для формирования монослоя следует подождать 15–20 мин.

### Задание 3.

Измерьте поверхностное натяжение жидкости с монослоем, каждый раз сокращая площадь монослоя путем передвижения барьера на 10 % и принимая наибольшую площадь за 100 %. Последней точкой

сжатия является площадь, составляющая 20 % от исходной. Затем выполните растяжение монослоя до исходной площади (от 20 % до 100 %).

Для этого с помощью подъемного столика поднимите кювету до соприкосновения нижнего края пластинки с поверхностью экстракта и образования мениска. Пластинка при этом втягивается в жидкость и вызывает отклонение указателя равновесия. Постепенно перемещая рычагом указатель веса по шкале весов, добейтесь возвращения пластинки в положение равновесия. Вырывать пластинку из жидкости не следует во избежание нарушения монослоя, потому что равновесие достигается перед самым отрывом. Показания указателя весов при каждом положении барьера занесите в таблицу 2. Выполните расчеты поверхностного натяжения и поверхностного давления.

Таблица 2

*Влияние сурфактанта на поверхностное натяжение жидкости*

Положение барьера, %	Сжатие монослоя			Растяжение монослоя		
	Показание весов, дин	Поверхностное		Показание весов, дин	Поверхностное	
		натяжение, дин/см	давление, дин/см		натяжение, дин/см	давление, дин/см
100						
90						
...						
20						

По полученным данным постройте график зависимости поверхностного давления от положения барьера, т. е. от площади монослоя.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Эластическая тяга легких и определяющие её факторы.
2. Уравнение Лапласа.
3. Свойства липидов мембран.

## 1.4. Физико-химические свойства эритроцитарной мембраны

**Цель работы:** исследовать резистентность эритроцитов к гипоосмотическим растворам хлорида натрия.

**Материалы и оборудование:** цельная гепаринизированная кровь, центрифуга лабораторная, пробирки центрифужные стеклянные, фотоэлектроколориметр или спектрофотометр, кюветы кварцевые, фильтровальная бумага, дозаторы автоматические, лабораторные пипетки, дистиллированная вода, раствор NaCl 10 %.

**Вопросы для самоподготовки:**

1. Осмотическая устойчивость эритроцитов.
2. Строение цитоскелета эритроцитов.

### ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

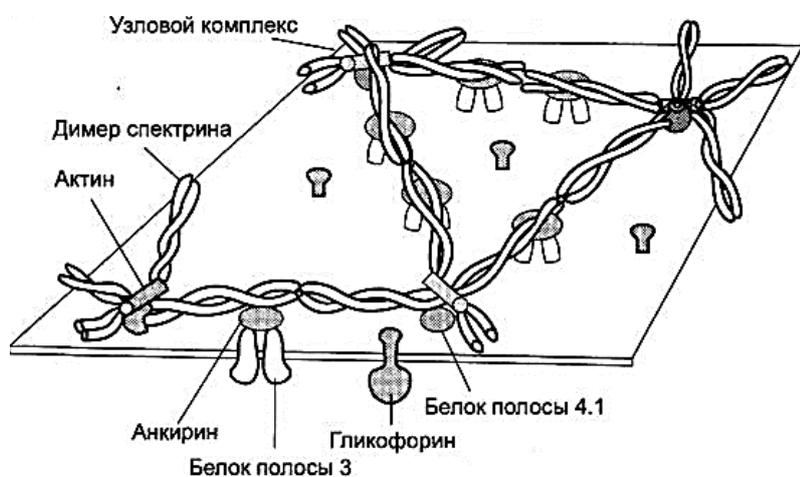
Эритроциты являются удобной моделью для изучения разнообразных свойств биологических мембран и их функций. Это связано с тем, что красные кровяные тельца не имеют внутриклеточных мембран, легкодоступны и в соответствующих условиях долго сохраняют жизнеспособность. Все биомембраны обладают механическими свойствами. Сила, достаточная для разрушения мембраны на участке в  $1 \text{ мкм}^2$ , оценивается в  $10^{-11} \text{ Н}$ .

Основной вклад в механическую прочность клеточной мембраны вносят белки, о чем свидетельствует сопоставление механических свойств липидного бислоя и нативной мембраны. Так, модуль упругости плазмолеммы эритроцитов на 1–2 порядка больше, чем у искусственной липидной мембраны. Значительный вклад в повышение упругости и прочности эритроцитарной мембраны вносят не только белки, встроенные в липидный бислой, но и белки цитоскелета.

Мембрана эритроцитов считается одной из наиболее простых мембранных систем, но и в ней присутствуют элементы и мозаичной и бутербродной моделей. Плазмолемма эритроцита в высшей степени асимметрична, что проявляется в различном составе молекулярных компонентов ее наружной и внутренней сторон, а также в их неодинаковой толщине. Общая площадь мембраны эритроцита составляет  $140\text{--}150 \text{ мкм}^2$ , а масса –  $(1,1\text{--}1,2) \cdot 10^{-12} \text{ г}$ . В мембране эритроцитов в среднем содержится 50 % белков, 40 % липидов и 10 % углеводов. Среди липидов эритроцитарной мембраны следует отметить холесте-

рин, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, сфингомиелин, фосфатидилсерин и фосфатидилинозит. Холестерин распределен более или менее равномерно между слоями бислоя, в то время как фосфатидилхолин и сфингомиелин преобладают в наружном слое липидов, а фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин и фосфатидилинозит – во внутреннем. Интегральными белками эритроцитарной мембраны являются гликофорин и белок полосы 3.

Важную роль в поддержании формы и высокой деформируемости эритроцитов играют белки мембранного каркаса: спектрин, актин, анкирин, белки полос 4.1 и 4.9 (рис. 4).



*Рис. 4. Цитоскелет эритроцита*

Белок полосы 4.2, аддуцин, тропомиозин и тропомодулин условно относят к мембранному каркасу, поскольку их функции изучены недостаточно. Спектрин является основным количественно преобладающим белком мембранного каркаса эритроцита и составляет 76 %. Образуя с актином белковую сеть на цитоплазматической стороне мембраны, спектрин принимает участие в поддержании интегративной целостности мембран и в обеспечении высокой деформируемости эритроцитов. При удалении спектрина из мембран, клетки не в состоянии сохранять свою целостность и распадаются на везикулы размером около 1 мкм. Спектрин и актин являются актомиозиноподобными сократительными белками. Они выполняют как цитоскелетную, так и цитокинетическую функции. Анкирин обеспечивает связь спектрина с цитоплазматическим доменом интегрального белка полосы 3 и играет роль своеобразного якоря, фиксирующего белковую сеть цитоскелета к липидному матриксу мембраны. Белок полосы 4.1 связан со спектрином, актином, интегральными белками – полосы 3 и гликофоринами. Белок полосы 4.9 имеет не менее двух мест связывания для актина, ко-

торые задействуются, когда белок 4.9 присутствует в комплексе спектрин-актин-белок 4.1. Белок полосы 4.2 связан с цитоплазматическим доменом анионного обменника, анкирином и белком полосы 4.1. Он необходим для стабилизации структуры мембраны. Аддуцин связывается со спектрин-актиновым комплексом и обеспечивает взаимодействие спектрина с актином. Тропомиозин связывается с актиновыми филаментами и предохраняет их от механических повреждений при сдвиговой деформации мембраны эритроцита, а также от воздействия актин-деполимеризующих белков. Тропомодулин связывается с концами тропомиозиновых молекул и, возможно, регулирует их взаимодействие с актином. В целом, белок-белковые взаимодействия являются критическим фактором, определяющим форму эритроцитов и механическую стабильность мембраны. Кроме того, в обеспечении стабильности участвует и взаимодействие белков мембранного каркаса с липидным матриксом мембраны. Свойство эритроцитов противостоять разрушительным воздействиям называют резистентностью. Резистентность или устойчивость эритроцитов можно исследовать по отношению к различным факторам: осмотическим, химическим, температурным и др.

В настоящей работе будет изучена осмотическая резистентность эритроцитов. Сущность метода заключается в исследовании устойчивости эритроцитов по отношению к гипотоническим растворам хлорида натрия. В норме эритроциты человека выдерживают снижение концентрации NaCl до 0,48–0,44 %. При концентрации NaCl ниже указанной гемолизуют первые наименее стойкие эритроциты (минимальная резистентность, верхняя граница осмотической резистентности) При дальнейшем уменьшении концентрации NaCl начинают разрушаться и более стойкие эритроциты. При концентрации NaCl от 0,32–0,38 % подвергаются гемолизу практически все эритроциты (максимальная резистентность, нижняя граница осмотической резистентности). Интервал между верхней и нижней границей называют амплитудой резистентности, а интервал между изотоническим пунктом (0,85 % NaCl) и верхней границей – зоной прочности.

## ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### Задание 1.

Приготовьте из исходного 10 % раствора NaCl с использованием дистиллированной воды раствор с концентрацией 1 % NaCl в объеме

20 мл. Затем из полученного 1 % раствора NaCl методом последовательного разведения подготовьте по 5 мл каждого раствора следующих концентраций: 0,85 %, 0,75 %, 0,65 %, 0,5 %, 0,4 %, 0,3 %, 0,2 %, 0,1 %.

К каждому из полученных растворов (объемом 5 мл) добавьте по 50 мкл гепаринизированной цельной крови. Аккуратно перемешайте кровь с раствором путем переворачивания, не встряхивая их. После чего оставьте пробирки на 30 мин при комнатной температуре.

### Задание 2.

Спустя 30 мин выполните центрифугирование пробирок в течение 5 мин при 1000 g. Перед центрифугированием пробирки с кровью необходимо попарно уравновесить. После центрифугирования из каждой пробирки последовательно, используя дозатор, соберите надосадочную жидкость в объеме 2 мл и определите ее оптическую плотность с помощью фотоэлектроколориметра или спектрофотометра. Компенсаторной жидкостью служит надосадочная жидкость из пробирки с концентрацией NaCl 0,85 %.

### Задание 3.

Рассчитайте процент гемолиза в каждой пробирке. Полученные данные занести в таблицу 3. Исходите из того, что оптическая плотность надосадочной жидкости из раствора с концентрацией 0,1 % NaCl, соответствует 100 % гемолизу.

Таблица 3

#### *Резистентность эритроцитов к растворам хлорида натрия*

Концентрация NaCl, %	0,85	0,75	0,65	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Оптическая плотность								
Гемолиз, %								

Полученные результаты также отобразить графически. По оси абсцисс отложите значения концентрации растворов NaCl (%), по оси ординат – гемолиз (%). Отметьте на графике амплитуду резистентности и зону прочности эритроцитов.

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Осмотическая резистентность эритроцитов и ее условия.
2. Строение плазматической мембраны эритроцитов.
3. Амплитуда резистентности и зона прочности эритроцитов.

## ГЛАВА 2

### ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

#### 2.1. Электропроводность биологических тканей для постоянного тока

**Цель работы:** исследовать поляризацию биологических тканей постоянным электрическим током.

**Материалы и оборудование:** гепаринизированная цельная кровь, источник постоянного тока, миллиамперметр, электроды, соединительные провода, химические стаканы, раствор NaCl 0,9 %, дистиллированная вода

**Вопросы для самоподготовки:**

1. Электропроводность ткани на постоянном токе.
2. Эквивалентные электрические схемы.

#### ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Биологическим объектам присущи пассивные электрические свойства: сопротивление и емкость. Биологические ткани и клетки обладают свойствами как проводников, так и диэлектриков. Проводимость этих объектов обуславливается наличием свободных ионов. Диэлектрические свойства биологических объектов и величина диэлектрической проницаемости определяются структурными компонентами и явлениями поляризации. Общей особенностью биообъектов является несоответствие между большим содержанием электролитов в клетках живых организмов и низкими величинами их электропроводности.

Экспериментально определяя сопротивление живых клеток и тканей, следует учитывать их чувствительность к действию электрического тока. При этом используют малые напряжения, чтобы не нарушать целостности образца.

Электропроводность ( $L$ ) – это величина, обратная сопротивлению проводника ( $R$ ):

$$L = \frac{1}{R} = \rho \frac{l}{S},$$

где  $\rho$  – удельное сопротивление,  $l$  – длина проводника,  $S$  – площадь поперечного сечения проводника.

Сопротивление ( $R$ ) является коэффициентом пропорциональности между разностью потенциалов ( $V$ ) и силой тока ( $I$ ):

$$V = RI$$

При пропускании постоянного тока через живые ткани было установлено, что сила тока не остается постоянной во времени, хотя прикладываемое напряжение не изменяется. Сразу после подключения источника напряжения сила тока начинает непрерывно падать и устанавливается на уровне много ниже исходного (рис. 5).

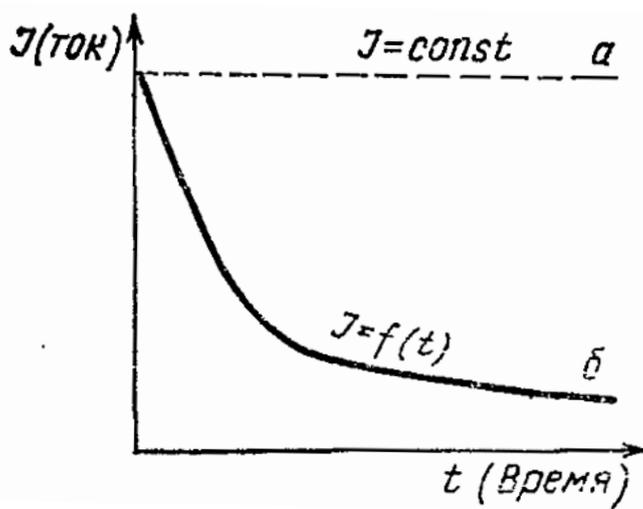


Рис. 5. Изменение силы тока во времени при наложении на ткань постоянной разности потенциалов: а – отсутствие поляризации, б – наличие поляризации

Это происходит из-за возникновения в образце электродвижущей силы противоположного направления – ЭДС поляризации ( $P(t)$ ). При отключении образца от источника напряжения в цепи некоторое время будет наблюдаться ток обратного направления, вызванный этой ЭДС. Таким образом, закон Ома для такого случая записывают как:

$$I = \frac{(V - P(t))}{R}$$

Поскольку любой биологический объект имеет сложную организацию, влияние электрического поля и реакция на него будут различными на разных структурных уровнях. Рассмотрим процессы, происходящие в биологических тканях при приложении внешнего электрического поля.

1. Как известно, электрическое поле вызывает упорядоченное движение свободных зарядов, в нашем случае – ионов. Следовательно, возникает электрический ток, что приводит, согласно закону Джоуля-

Ленца, к выделению тепла. Этот процесс дает вклад в активную составляющую импеданса.

2. Также электрическое поле действует на связанные электрические заряды, не имеющие возможности свободного перемещения и на заряды, перемещение которых возможно лишь в малой ограниченной области. Однако воздействие на эти обе группы зарядов приводит к значительному эффекту – перераспределению в пространстве электрических зарядов или, другими словами, поляризации биологической ткани.

Поляризация по своей природе делится на несколько видов:

1. Электронная поляризация – это смещение электронов на своих орбитах относительно положительно заряженных ядер, что приводит к возникновению индуцированных, наведенных диполей. Время возникновения электронной поляризации после мгновенного наложения поля, называемое временем релаксации, равняется  $10^{-16}$ – $10^{-14}$  с. Возникающий диполь имеет небольшую величину.

2. Ионная поляризация – это смещение иона относительно кристаллической решетки, что также приводит к возникновению дипольного момента. Характерное время релаксации –  $10^{-14}$ – $10^{-12}$  с.

3. Дипольная (ориентационная) поляризация появляется вследствие ориентации полярных молекул в составе вещества в соответствии с направлением электрического поля. Имеет большое значение для таких полярных молекул как вода, спирты, белковые макромолекулы с диссоциированными группами и т.п. Время релаксации для данного типа поляризации совпадает со временем поворота молекул, а потому зависит от вязкости среды, температуры и радиуса молекул. В зависимости от указанных факторов это время изменяется в пределах  $10^{-13}$ – $10^{-7}$  с.

4. Макроструктурная поляризация возникает вследствие неоднородности электрических свойств вещества. При наличии слоев с различной электропроводностью после наложения электрического поля заряды двигаются до границы проводящего слоя и там накапливаются. В результате этого процесса проводящая часть ткани приобретает дипольный момент и ведет себя подобно гигантской поляризационной молекуле. Время релаксации этого типа –  $10^{-8}$ – $10^{-3}$  с.

5. Поверхностная поляризация происходит на поверхностях, имеющих двойной электрический слой. При наложении поля происходит перераспределение ионов диффузионной части двойного электрического слоя: частицы дисперсной фазы смещаются в одну сторону, а

ионы диффузионного слоя – в другую, таким образом, формируя навесные диполи. Время релаксации поверхностной поляризации от  $10^{-16}$  до  $10^{-14}$  с.

6. Электролитическая поляризация возникает между электродами, опущенными в раствор электролита, при пропускании через них электрического тока. При наложении разности потенциалов на электроды происходит перераспределение потенциалопределяющих ионов в диффузионной части двойного электрического слоя: в области катода концентрация ионов (катионов) увеличится, а в области анода – уменьшится. В процессе дальнейшего изменения концентрации ионов в приэлектродных слоях могут начаться электрохимические реакции на электродах: ионы будут переходить из раствора на один электрод, а с другого электрода уходить в раствор. Таким образом, и в случае электролитической поляризации появление ЭДС поляризации обусловлено смещением зарядов, которое в данном случае проявляется как изменение концентрации ионов в приэлектродной зоне. Время релаксации данного типа поляризации измеряется величинами порядка  $10^{-4}$ – $10^2$  с.

Различают также несколько структурных уровней поляризации:

1. В макроскопических областях, ограниченных средами с низкой электропроводностью, под действием электрического поля происходит перемещение ионов межклеточной жидкости до границ области. Возникает большой дипольный момент, величина которого определяется размерами области и суммарным зарядом перемещенных ионов.

2. В пределах отдельной клетки происходит смещение ионов цитозоля до границ клеточной мембраны, имеющей низкую электропроводность. Дипольный момент отдельной клетки невелик, но при значительной плотности клеток их суммарный дипольный момент сравним по величине с дипольным моментом ткани.

3. Для ядер клеток и других внутриклеточных структур, имеющих собственную мембрану, механизм поляризации аналогичен клеточному. Дипольный момент мал по сравнению с клеточным.

4. Ориентационная поляризация белков и других макромолекул. Величина поляризации зависит от состояния этих молекул (свободные или связанные).

5. Ориентационная поляризация воды и электролитов. Величина поляризации наименьшая из всех.

Схематически разные структурные уровни поляризации представлены на рисунке 6.



Рис. 6. Структурные уровни поляризации биологической ткани

Помимо прямого исследования зависимости поляризации от частоты, существует интегральный способ оценки этой зависимости – определение изменения поляризации во времени в ответ на ступенчатое (мгновенное) включение внешнего электрического поля. Если в момент времени  $t = 0$  напряженность внешнего электрического поля возрастает от нуля до определенного значения, то зависимость от времени поляризации имеет одинаковый характер для всех механизмов:

$$P(t) = P_m \cdot (1 - e^{(-t/\tau)}),$$

где  $P_m$  – наибольшее значение поляризации,  $\tau$  – время релаксации.

В постоянном электрическом поле проявляются все типы поляризации и величина диэлектрической проницаемости максимальна.

## ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### Задание 1.

Соберите электрическую схему для исследования явления поляризации (рис. 7).

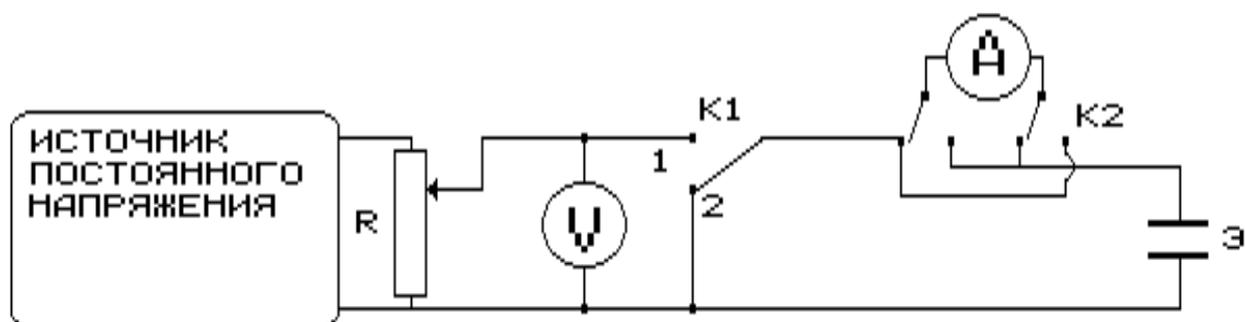


Рис. 7. Электрическая схема для исследования явления поляризации:

R – реостат, V – вольтметр, A – амперметр,  $k_1$ ,  $k_2$  – переключатели,  
Э – электроды

## Задание 2.

Налейте в стаканчик дистиллированную воду, опустите в него электроды. Установите напряжение на источнике постоянного тока 0,5 В. Ключ  $k_1$  переключить в положение 1 и отметить с помощью миллиамперметра величину силы тока в момент включения. Далее регистрируйте силу тока в течение 1 мин через каждые 10 с. По окончании измерения переключите ключом  $k_2$  полярность миллиамперметра и одновременно переключите ключ  $k_1$  в положение 2. Измерьте величину реполяризационного тока в момент переключения и далее в течение 1 мин через каждые 10 с. Такие же измерения выполните при напряжениях 1,0; 1,5; 2,0 В.

Повторите данное исследование для раствора 0,9 % NaCl и цельной крови. Полученные результаты занесите в таблицу 4.

Таблица 4

### *Значения токов поляризации и реполяризации*

Объект	Ток поляризации, мА							Ток реполяризации, мА						
	Времена измерения, с													
	0	10	20	30	40	50	60	0	10	20	30	40	50	60
Дистиллированная вода														
0,9 % NaCl														
Цельная кровь														

Постройте графики зависимости токов поляризации и реполяризации ( $I$ , мА) от времени ( $t$ , с).

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Явление поляризации на постоянном токе.
2. Виды поляризации.
3. Время релаксации.

## 2.2. Дисперсия электропроводности биологических тканей для переменного тока

**Цель работы:** определить суммарное сопротивление биологической ткани переменному току.

**Материалы и оборудование:** биологическая ткань (животная или растительная ткань), генератор сигналов специальной формы, осциллограф, соединительные провода и клеммы, добавочное сопротивление.

**Вопросы для самоподготовки:**

1. Дисперсия импеданса биологической ткани.
2. Омическое и емкостное сопротивление.

### ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Как известно, переменный ток – это ток, который изменяется как по величине, так и по направлению. Если к электрической цепи, состоящей из последовательно соединенных резистора, катушки индуктивности, и конденсатора, приложить переменное напряжение, то в цепи потечет ток по закону Ома:

$$I = \frac{U}{Z},$$

где  $I$  – сила тока,  $U$  – напряжение,  $Z$  – импеданс или суммарное сопротивление.

Импеданс полной цепи переменного тока определяется по следующей формуле:

$$Z = \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2},$$

где  $R$  – омическое (активное) сопротивление,  $X_L$  – индуктивное сопротивление,  $X_C$  – емкостное сопротивление.

В свою очередь, индуктивное сопротивление зависит от частоты переменного тока ( $\omega$ ) и величины индуктивности ( $L$ ):

$$X_L = \omega L$$

Емкостное сопротивление обратно пропорционально частоте переменного тока ( $\omega$ ) и емкости ( $C$ ):

$$X_C = \frac{1}{\omega C}$$

Индуктивное и емкостное сопротивления называют реактивным сопротивлением. Живые ткани, по современным представлениям, не обладают индуктивностью. Полное сопротивление живой ткани (импеданс,  $Z$ ) можно рассматривать как совокупность омического сопротивления  $R$ , не зависящего от частоты переменного тока, и емкостного сопротивления, зависящего от частоты переменного тока.

Наличие емкостного сопротивления живой клетки обусловлено особенностями строения ее биологической мембраны. Липиды в мембране располагаются в виде бимолекулярного слоя и обуславливают высокое электрическое удельное сопротивление, которое составляет примерно  $10^7$  Ом·м, и большую удельную емкость ( $5 \cdot 10^{-3}$  Ф/м<sup>2</sup>). Таким образом, биологическую мембрану можно рассматривать как электрический конденсатор, проводниковые пластины которого образуют электролиты наружного и внутреннего растворов (внеклеточного и цитоплазмы). Проводники разделены липидным бислоем, который играет роль диэлектрика с диэлектрической проницаемостью равной 2. В биологических тканях встречаются и макроскопические образования, состоящие из различных соединительнотканых оболочек и перегородок, являющиеся плохими проводниками, по обе стороны которых находятся ткани, обильно снабженные тканевой жидкостью. Особенности такого строения биологических тканей придают организму емкостные свойства.

Учитывая сказанное, импеданс для тканей организма можно представить следующей формулой:

$$Z = \sqrt{R^2 + X_C^2} = \sqrt{R^2 + \left(\frac{1}{\omega C}\right)^2}$$

Из данной формулы следует, что чем больше частота переменного тока  $\omega$ , тем меньше емкостное сопротивление  $X_C$ . Уменьшение емкостного сопротивления при увеличении частоты переменного тока приводит к уменьшению импеданса биологических тканей.

Импеданс биологических тканей можно моделировать с помощью эквивалентных электрических схем. Они представляют собой различные комбинации конденсаторов ( $C$ ) и резисторов ( $R$ ). На рисунке 8 приведены варианты возможных эквивалентных схем, состоящих из соединенных омического и емкостного сопротивлений.

Последовательно соединенная схема (рис. 8, а) описывает электрические свойства поверхностных тканей. Параллельное соединение

омического и емкостного сопротивления характерно для глубоко лежащих тканей (рис. 8, б). Слой кожи и подкожной клетчатки можно представить схемой со значительной емкостью, последовательно соединенной с небольшим сопротивлением  $R_2$  и параллельно с большим сопротивлением  $R_1$  (рис. 8, в).

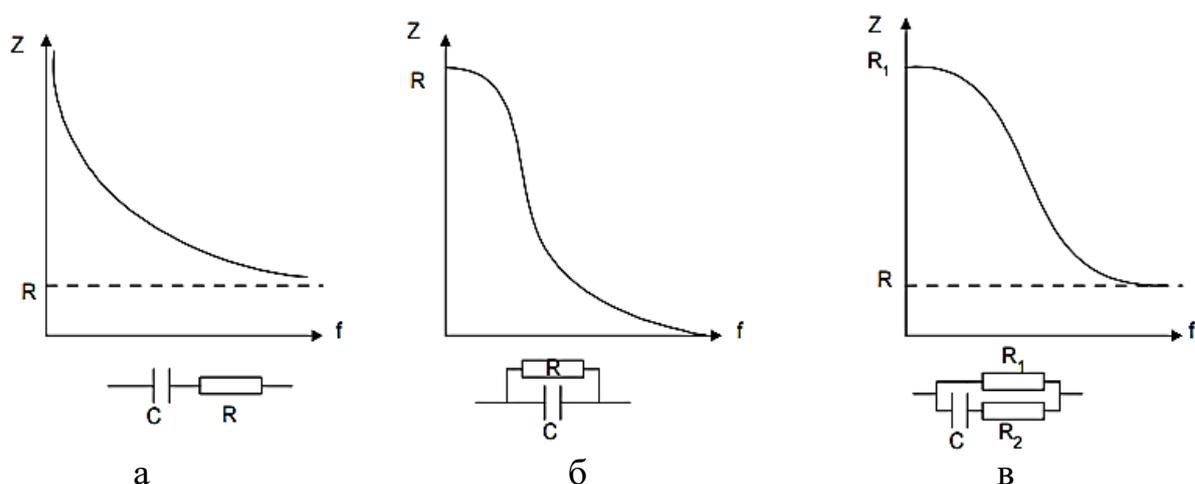


Рис. 8. Эквивалентные электрические схемы:

а – последовательное соединение, б – параллельное соединение, в – параллельное соединение с небольшим сопротивлением  $R_2$  и большим сопротивлением  $R_1$

Как уже было отмечено, увеличение частоты переменного тока приводит к уменьшению емкостного сопротивления, а значит к уменьшению импеданса биологических тканей. В таком случае, электропроводность живой ткани увеличивается. Поскольку ткани состоят из разных молекул, то в электрическом поле с изменением частоты они будут по-разному поляризоваться. Следовательно, от частоты будут зависеть все электрические характеристики ткани. Эта зависимость называется дисперсией электрических свойств (или дисперсией электропроводности).

Увеличение электропроводности живых тканей при увеличении частоты переменного тока связано с уменьшением явления поляризации. Поскольку диполи и ионы ведут себя по-разному при действии переменного тока разной частоты. При небольших частотах диполи и ионы успевают вслед за изменением поля переориентироваться и накапливаться на поверхности раздела фаз, слоев или мембран, т.е. явление поляризации имеет место. Однако при увеличении частоты переменного тока все меньшая часть заряженных частиц успевает переориентироваться вслед за изменением переменного электрического поля, и эффект поляризации уменьшается.

При достаточно большой частоте, поляризационные явления практически отсутствуют, так как диполи и ионы не успевают переориентироваться. При изменении частоты поля они лишь колеблются около положения равновесия, вызывая превращение энергии колебательного движения в тепловую. Дисперсия электропроводности свойственна всем живым тканям как растительного, так и животного происхождения. При отмирании биологической ткани дисперсия исчезает, так как разрушаются клетки – «живые конденсаторы» и ткань будет обладать лишь омическим сопротивлением.

На рис. 9 представлена зависимость импеданса от частоты для живой биологической ткани (а) и мертвой (б).

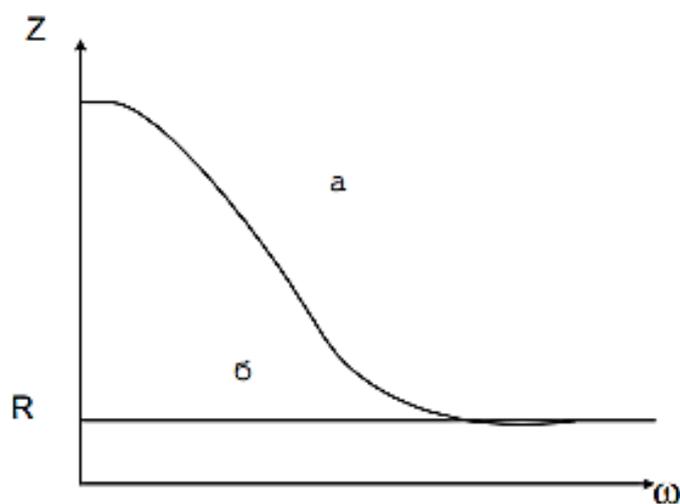


Рис. 9. Частотная зависимость импеданса биологических тканей

Существуют различные методы измерения электропроводности биологических тканей. Наибольшее распространение получил мостовой метод (рис. 10). В этом методе для уменьшения явления поляризации измерение производят от источника переменного тока при частоте 10 кГц.

Соответствующим подбором сопротивлений  $Z_{изм}$  можно добиться, того чтобы ток, протекающий через гальванометр, был равен нулю. Для этого случая выполняется следующее соотношение:

$$Z_1 \cdot Z_{изм} = Z_2 \cdot Z_X$$

Если  $Z_1 = Z_2$  (плечи симметричны), то  $Z_X = Z_{изм}$  и, следовательно,  $R_X = R_{изм}$  и  $C_X = C_{изм}$ .

Мостовые схемы, предназначенные для медико-биологических измерений, должны работать при напряжениях 50–100 В, чтобы не вно-

сильных существенных изменений в физико-химические процессы, происходящие в биообъекте, и, тем более, не повредить его. Это условие предполагает высокую чувствительность мостовой схемы.

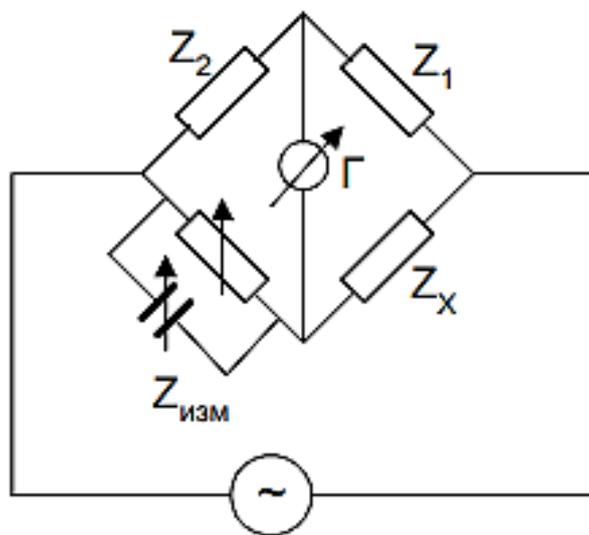


Рис. 10. Мостовая схема измерения импеданса:

$Z_1$  – импеданс плеча 1,  $Z_2$  – импеданс плеча 2,  $Z_{изм}$  – импеданс измерительного плеча,  $Z_x$  – импеданс измеряемого образца

Импеданс можно также определить путем измерения напряжения  $U$  и силы тока  $I$  согласно закону Ома. Точность этого метода значительно ниже по сравнению с мостовым, однако, он позволяет произвести измерения за очень короткое время.

Поскольку параметры, характеризующие электрические свойства (электропроводность, емкость, диэлектрическая проницаемость, импеданс и др.) органов и тканей, зависят от их физиологического состояния, они могут служить его показателями. При низких частотах сопротивление объекта может служить мерой проницаемости мембран для различных ионов. При патологических процессах в тканях изменяются их электрические свойства. Так, в начальной стадии воспалительного процесса происходит набухание клеток, объем межклеточных пространств уменьшается, в результате чего увеличивается омическое сопротивление. На более поздних стадиях воспаления возникают глубокие структурные изменения, увеличение клеточной проницаемости, что сопровождается уменьшением емкости и сопротивления. Таким образом, изменение электрических параметров биологических тканей может служить показателем для диагностики воспалительных процессов.

На основании измерения импеданса тканей на низких ( $10^4$  Гц) и высоких ( $10^6$  Гц) частотах определяют коэффициента поляризации  $K$  (коэффициент Тарусова):

$$K = \frac{Z_{10^4}}{Z_{10^6}}$$

Коэффициент поляризации характеризует жизнеспособность биообъекта. Для однотипных тканей его величина зависит от положения организма в эволюционном ряду, от обмена веществ. Например, для печени млекопитающих  $K=9-10$ , для печени лягушки  $K=2-3$ . При отмирании биологической ткани коэффициент поляризации уменьшается и при полной гибели  $K=1$ .

## ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### Задание 1.

Соберите электрическую схему для исследования дисперсии импеданса биологических тканей как показано на рисунке 11. Установите на выходе генератора напряжение 1 В.

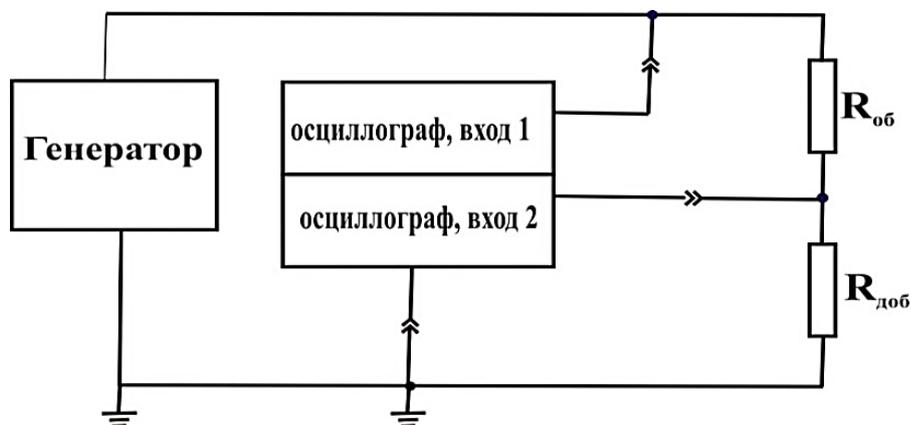


Рис. 11. Электрическая схема для исследования дисперсии импеданса:  
 $R_{доб}$  – добавочное сопротивление,  $R_{об}$  – сопротивление объекта

### Задание 2.

Поместите биообъект (растительная или животная ткань) между электродами. Последовательно установите частоты переменного тока на выходе генератора равными 10, 100, 1000, 10000 Гц, 0,1, 1 и 5 МГц и измерьте падение напряжения на электродах и на  $R_{доб}$ .

Рассчитайте для всех частот переменного тока силу тока ( $I$ ), протекающего через электроды, по формуле:

$$I = \frac{U_R}{R_{доб}}$$

где  $U_R$  – падение напряжения на сопротивлении  $R_{доб}$ ,  $R_{доб}$  принять равным 100 Ом.

Рассчитайте величину импеданса ( $Z$ ) для всех проведенных измерений по формуле:

$$Z = \frac{U}{I}$$

где  $U$  – падение напряжения на электродах,  $I$  – сила тока в электрической цепи.

Напряжение на электродах можно поддерживать на уровне 1 В, тогда  $U$  в формуле для расчета импеданса принять равным 1 В.

Полученные данные занесите в таблицу 5.

Таблица 5

*Изменение импеданса ткани при действии переменного тока*

$\omega$ , Гц	10	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$5 \cdot 10^6$
$U_R$ , В							
$I$ , А							
$Z$ , Ом							

### Задание 3.

Подвергните биологическую ткань действию какого-либо повреждающего фактора (например, нагреванию). Повторите эксперимент, выполните необходимые расчеты.

Постройте график зависимости импеданса ткани ( $Z$ , Ом) от частоты переменного тока ( $\lg \omega$ ) по данным обоих экспериментов.

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Суммарное сопротивление биологической ткани.
2. Эквивалентные электрические схемы.
3. Методы регистрации импеданса биологической ткани.

## 2.3. Возбудимость скелетной мускулатуры человека

**Цель работы:** исследовать возбудимость скелетной мускулатуры при действии электрического стимула.

**Материалы и оборудование:** электростимулятор лабораторный, соединительные провода, электроды, марлевые салфетки, раствор NaCl 10 %, спирт этиловый 70 %, резиновый жгут.

**Вопросы для самоподготовки:**

1. Потенциал покоя скелетного мышечного волокна.
2. Электромеханическое сопряжение в скелетной мышце.

### ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Раздражимость – свойство всех без исключения живых клеток, представляет собой способность живого организма реагировать на внешнее воздействие изменением своих физико-химических и физиологических свойств. Возбудимость – более узкое понятие и представляет собой способность реагировать на электрические стимулы, генерируя потенциал действия. К возбудимым тканям относят нервную, мышечную и железистую.

Известно, что все клетки организма имеют трансмембранный электрический заряд, обусловленный неодинаковой концентрацией катионов и анионов в наружном и внутреннем примембранном слоях клетки. Внутренний примембранный слой имеет отрицательный заряд, наружный – положительный. Наиболее распространенным катионом во внеклеточной среде является  $\text{Na}^+$ , во внутриклеточной –  $\text{K}^+$ .

Различная концентрация анионов и катионов является следствием неодинаковой проницаемости плазматической мембраны для разных ионов. Проницаемость плазматической мембраны определяется наличием в ее составе разных ионных каналов, размерами каналов и частиц, растворимостью частиц в мембране (клеточная мембрана проницаема для растворимых в ней липидов и непроницаема для пептидов). При действии раздражителя на клетку возбудимой ткани изменяется ионная проницаемость плазматической мембраны. В результате ионы быстро перемещаются через мембрану согласно электрохимическому градиенту (например, положительные ионы движутся в сторону избыточного отрицательного заряда и меньшей концентрации данного иона). Это и есть процесс возбуждения.

Мерой возбудимости является порог раздражения. Порог раздражения – это минимальная сила раздражителя, способная вызвать возбуждение.

Потенциал покоя большинства электровозбудимых клеток, и мышечных в том числе, имеет калиевую природу, т. к. движение именно этих ионов по концентрационному и электрохимическому градиенту в основном обуславливает разность потенциалов на мембране в состоянии покоя.

Величина потенциала покоя ( $E$ ) рассчитывается по формуле Гольдмана:

$$E = \frac{R \cdot T}{F} \ln \frac{P_{Na^+} [Na]_0 + P_{K^+} [K]_0 + P_{Cl^-} [Cl]_i}{P_{Na^+} [Na]_i + P_{K^+} [K]_i + P_{Cl^-} [Cl]_0},$$

где  $R$  – универсальная газовая постоянная,  $T$  – абсолютная температура,  $F$  – число Фарадея,  $[K^+]_i$ ,  $[Na^+]_i$ ,  $[Cl^-]_i$  – концентрации ионов внутри клетки,  $[K^+]_o$ ,  $[Na^+]_o$ ,  $[Cl^-]_o$  – концентрации ионов вне клетки,  $P$  – проницаемость мембраны для соответствующих ионов.

При нанесении на мембрану клетки электрического раздражения пороговой силы генерируется потенциал действия. При этом увеличивается проницаемость мембраны для ионов  $Na^+$ , которые по концентрационному и электрохимическому градиенту поступают внутрь клетки в фазу деполяризации. Таким образом, потенциал действия имеет натриевую природу. Постоянство концентрации ионов  $K^+$  и  $Na^+$  внутри клетки обеспечивается механизмом активного транспорта. Его система представлена специальным ферментом-переносчиком  $Mg^{2+}$ -зависимой  $Na^+/K^+$ -АТФазой. Этот переносчик осуществляет противогradientный транспорт ионов  $K^+$  и  $Na^+$  через мембрану за счет энергии гидролиза АТФ.

Согласно закону длительности раздражения, раздражающее действие постоянного тока зависит не только от его величины, но и от времени, в течение которого он действует. Чем больше величина тока, тем меньше времени он должен действовать для возникновения возбуждения.

Зависимость между силой постоянного электрического тока и длительностью его воздействия для появления ответной реакции имеет гиперболический характер (кривая Гоорвега–Вейса–Лапика, рис. 12). Поэтому воздействие тока ниже минимальной величины не вызовет возбуждение в ткани, как бы длительно он не действовал. Кроме того, чем короче импульс тока, тем меньше его раздражающая способность.

Причиной этой зависимости является неспособность раздражителя осуществить определенный сдвиг мембранного потенциала вследствие кратковременности действия или недостаточной силы раздражителя.

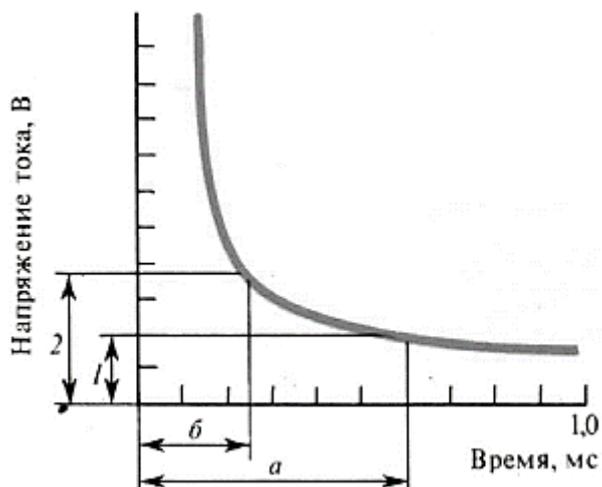


Рис. 12. Кривая «сила-длительность»:

1 – реобазис, 2 – ток, величиной в две реобазисы, а – полезное время, б – хронаксия

Минимальная величина тока, способная вызывать возбуждение, называется реобазисом. Если возбудимость ткани высокая, то пороговая сила раздражителя может быть низкой. Минимальное время, в течение которого раздражитель данной силы должен воздействовать на ткань, обозначается термином полезное время. Если сила раздражителя равна двум реобазисам, то полезное время такого раздражителя называют хронаксией. Чем меньше полезное время и хронаксия, тем выше возбудимость ткани.

## ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### Задание 1.

Подготовьте электростимулятор к работе. К выходу генератора подсоедините соединительные провода и электроды. Установите на шкалах стимулятора минимальное напряжение, длительность импульса 1 мс, частоту следования импульсов 0,2 Гц (1 импульс через 5 с).

### Задание 2.

Поверхность кожи в местах наложения электродов протрите спиртом. Один электрод с помощью резинового жгута зафиксируйте на ла-

донной поверхности запястья, под электрод подложите марлевые салфетки, смоченные 10 % раствором хлорида натрия. Другой электрод поместите в основание большого пальца кисти так, чтобы расстояние между электродами составляло не более 6–8 см.

### Задание 3.

Включите электростимулятор. Контролируя генерацию импульсов по щелчкам стимулятора, в период паузы между импульсами плавно увеличивайте напряжение импульса от 0 до величины, при которой произойдет возбуждение мышц (ощущение покалывания). Произведите такие же измерения при длительности импульсов 1, 10, 50, 100, 500 и 1000 мс. Проведя исследования на 5–6 пациентах, результаты занесите в таблицу 6.

Таблица 6

*Зависимость ответной реакции возбудимой ткани от длительности стимула*

Длительность импульса, мс	1	10	50	100	500	1000
Напряжение импульса, В						

По полученным данным постройте кривую «сила-длительность», откладывая по оси ординат напряжение импульсов (В), по оси абсцисс длительность импульсов (мс). Определите по этой кривой реобазу, хронаксию, полезное время.

### **Вопросы для самоконтроля**

1. Сущность метода хронаксиметрии.
2. Кривая «сила-длительность».
3. Реобаза, полезное время, хронаксия.

## ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

*Выберите один правильный ответ.*

1. СПЕКТР ПОГЩЕНИЯ БЕЛКОВ – ЭТО ЗАВИСИМОСТЬ
  - 1) оптической плотности раствора от его концентрации
  - 2) молярного коэффициента поглощения от длины волны
  - 3) длины волны от молярного коэффициента поглощения
  - 4) оптической плотности раствора от длины волны света
2. ЗАКОН ЛАМБЕРТА–БЕРА НЕ ОПРЕДЕЛЯЕТ ЗАВИСИМОСТЬ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ОТ
  - 1) длины оптического пути
  - 2) концентрации вещества
  - 3) длины волны действующего света
3. ДЛИНА ОПТИЧЕСКОГО ПУТИ – ЭТО
  - 1) толщина раствора в кювете
  - 2) толщина кюветы с раствором
  - 3) расстояние от источника света до кюветы с раствором
  - 4) толщина кюветы без раствора
4. ОСНОВНОЙ ВКЛАД В МЕХАНИЧЕСКУЮ ПРОЧНОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ ВНОСЯТ
  - 1) липиды
  - 2) белки
  - 3) гликолипиды
  - 4) углеводы
5. ЭРИТРОЦИТЫ ЯВЛЯЮТСЯ МОДЕЛЬЮ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН И ИХ ФУНКЦИЙ, ПОТОМУ ЧТО
  - 1) не имеют внутриклеточных мембран
  - 2) имеют округлую форму
  - 3) имеют клеточную стенку
  - 4) переносят кислород
6. БЕЛКИ ЦИТОСКЕЛЕТА ЭРИТРОЦИТОВ ОБЕСПЕЧИВАЮТ
  - 1) амфифильность липидов мембраны

- 2) жидкокристаллическое строение мембраны
- 3) деформируемость мембраны

7. ХОЛЕСТЕРИН В МЕМБРАНЕ ЭРИТРОЦИТОВ

- 1) отсутствует
- 2) распределен равномерно
- 3) обеспечивает повышенную деформируемость
- 4) обеспечивает повышение жесткости мембраны

8. В ПОДДЕРЖАНИИ ФОРМЫ И ВЫСОКОЙ ДЕФОРМИРУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ВАЖНУЮ РОЛЬ ИГРАЮТ

- 1) спектрин
- 2) миозин
- 3) анкирин
- 4) гемоглобин

9. СПЕКТРИН МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЯВЛЯЕТСЯ

- 1) белком цитоскелета
- 2) сократительным белком
- 3) фосфолипидом мембран
- 4) полисахаридом

10. ФОРМУ ЭРИТРОЦИТОВ И МЕХАНИЧЕСКУЮ СТАБИЛЬНОСТЬ МЕМБРАНЫ ОПРЕДЕЛЯЮТ

- 1) белок-белковые взаимодействия
- 2) липид-липидные взаимодействия
- 3) электростатические взаимодействия
- 4) гидрофобные взаимодействия

11. В НОРМЕ ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА ВЫДЕРЖИВАЮТ СНИЖЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРИДА НАТРИЯ ДО

- 1) 0 %
- 2) 100 %
- 3) 0,48–0,44 %
- 4) 5,5–4,5 %

12. АМПЛИТУДОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ НАЗЫВАЮТ

- 1) омическое сопротивление мембраны
- 2) сопротивление эритроцитов к механическим воздействиям
- 3) интервал между границами резистентности

4) интервал около зоны прочности эритроцита

13. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАССИВНОГО ТРАНСПОРТА

- 1) движущая сила – электрохимический градиент переносимых ионов
- 2) электрохимический градиент увеличивается
- 3) требуется энергия АТФ

14. НАЛИЧИЕ В ВЕЩЕСТВЕ ГИДРОФИЛЬНЫХ (ПОЛЯРНЫХ ГРУПП)

- 1) увеличивает проницаемость мембраны для этого вещества
- 2) обеспечивает низкую проницаемость мембраны для этого вещества
- 3) увеличивает его растворимость в липидах мембран

15. ОБЛЕГЧЕННАЯ ДИФфуЗИЯ В ОТЛИЧИЕ ОТ ПРОСТОЙ ПРОИСХОДИТ

- 1) против градиента концентрации
- 2) с участием белка-переносчика
- 3) путем растворения переносимого вещества в липидах

16. УРАВНЕНИЕ ФИКА ОПИСЫВАЕТ

- 1) перенос незаряженных частиц через мембрану
- 2) облегченную диффузию глюкозы
- 3) перенос ионов через каналы
- 4) кинетику переноса ионов с помощью белков-переносчиков

17. ЗАКОН ОМА ЗАПИСЫВАЕТСЯ СЛЕДУЮЩИМ УРАВНЕНИЕМ

- 1)  $U = IR$
- 2)  $U = I/R$
- 3)  $R = I/U$
- 4)  $I = R/U$

18. ПРИЧИНОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ ЯВЛЯЕТСЯ ПЕРЕМЕЩЕНИЕ В ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ

- 1) свободных зарядов
- 2) связанных зарядов
- 3) ионов кальция
- 4) электронов

19. ЯВЛЕНИЕ ПОЛЯРИЗАЦИИ НАБЛЮДАЕТСЯ ПРИ ПРОПУСКЕНИИ ЧЕРЕЗ ОБЪЕКТ
- 1) постоянного тока
  - 2) переменного тока любой частоты
  - 3) тока низкой частоты
  - 4) тока сверхвысокой частоты
20. С УВЕЛИЧЕНИЕМ ЧАСТОТЫ ТОКА ЕМКОСТНОЕ СОПРОТИВЛЕНИЕ
- 1) увеличивается прямо пропорционально
  - 2) уменьшается
  - 3) остается постоянным
  - 4) экспоненциально увеличивается
21. ДИСПЕРСИЯ ИМПЕДАНСА – ЭТО ЗАВИСИМОСТЬ СУММАРНОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ ОБЪЕКТА ОТ
- 1) силы действующего тока
  - 2) времени
  - 3) напряжения
  - 4) круговой частоты действующего тока
22. КОЭФФИЦИЕНТ ПОЛЯРИЗАЦИИ ТАРУСОВА ПОЗВОЛЯЕТ ОЦЕНИТЬ
- 1) дисперсию импеданса
  - 2) степень повреждения биообъекта
  - 3) суммарное сопротивление биообъекта
23. НАИМЕНЬШИМ ВРЕМЕНЕМ РЕЛАКСАЦИИ ОБЛАДАЕТ ПОЛЯРИЗАЦИЯ
- 1) дипольная
  - 2) ионная
  - 3) электронная
  - 4) макроструктурная
24. К ПАССИВНЫМ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ХАРАКТЕРИСТИКАМ МЕМБРАНЫ ОТНОСЯТ
- 1) омическое сопротивление и емкость
  - 2) диффузионные градиенты ионов
  - 3) емкость и индуктивность

25. ПРИ ПОЛЯРИЗАЦИИ НАБЛЮДАЕТСЯ

- 1) отклонение от закона Ома
- 2) дисперсия омического сопротивления
- 3) дисперсия импеданса
- 4) зависимость емкостного сопротивления от частоты тока

26. РЕОБАЗА – ЭТО

- 1) минимальная сила раздражающего тока при большой длительности его действия
- 2) минимальная сила раздражающего тока при минимальной длительности его действия
- 3) максимальная сила раздражающего тока при минимальной длительности его действия
- 4) максимальная сила раздражающего тока при большой длительности его действия

27. ХРОНАКСИЯ – ЭТО

- 1) минимальное время действия порогового тока
- 2) минимальное время действия тока, равного двум реобазам
- 3) максимальное время действия порогового тока
- 4) минимальное время действия тока, равного одной реобазе

28. ФАЗА ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ НЕРВНОГО ВОЛОКНА ОБУСЛОВЛЕНА

- 1) входом ионов натрия в клетку
- 2) входом ионов кальция в клетку
- 3) выходом ионов калия из клетки
- 4) выходом ионов хлора из клетки

29. ФАЗА РЕПОЛЯРИЗАЦИИ НЕРВНОГО ВОЛОКНА ОБУСЛОВЛЕНА

- 1) входом ионов натрия в клетку
- 2) входом ионов кальция в клетку
- 3) выходом ионов калия из клетки
- 4) выходом ионов хлора из клетки

30. ОВЕРШУТ – ЭТО

- 1) следовая гиперполяризация
- 2) превышение над величиной потенциала покоя
- 3) превышение над нулевой линией
- 4) положительная часть потенциала действия

## ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

<b>Номер задания</b>	<b>Номер ответа</b>	<b>Номер задания</b>	<b>Номер ответа</b>	<b>Номер задания</b>	<b>Номер ответа</b>
<b>1</b>	4	<b>11</b>	3	<b>21</b>	4
<b>2</b>	3	<b>12</b>	3	<b>22</b>	2
<b>3</b>	1	<b>13</b>	1	<b>23</b>	3
<b>4</b>	2	<b>14</b>	2	<b>24</b>	1
<b>5</b>	1	<b>15</b>	2	<b>25</b>	1
<b>6</b>	3	<b>16</b>	1	<b>26</b>	1
<b>7</b>	4	<b>17</b>	1	<b>27</b>	2
<b>8</b>	1	<b>18</b>	2	<b>28</b>	1
<b>9</b>	1	<b>19</b>	1	<b>29</b>	3
<b>10</b>	1	<b>20</b>	2	<b>30</b>	4

## СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

**Задача № 1.** Расчеты количества белков, связанных с мембраной, на клетку и доли поверхности плазматической мембраны, занятой этими белками, важны для понимания структуры плазматической мембраны. С этой целью выделяют плазматические мембраны, после чего белки, связанные с мембранами, разделяют методом электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия, а затем окрашивают красителем Кумасси синим. Поскольку интенсивность окраски в первом приближении пропорциональна количеству белка в полосе, то можно количественно определить белки. Было установлено что доля красителя, связанного со спектрином составила 25 %, белком полосы 3–30 %, гликофорином – 2,3 %. Молекулярная масса белка спектрина составляет 250 000 Да, белка полосы 3 – 100 000 Да, гликофорин – 30 000 Да. При расчетах исходите из того, что в 1 мл суспензии тений эритроцитов содержится  $10^{10}$  клеток и 5 мг белка мембран

*Рассчитайте число молекул спектрина, белка полосы 3 и гликофорина на одну клетку.*

**Задача № 2.** Плазматическая мембрана эпителия кишечника устроена таким образом, что на той стороне клеток, которая обращена в полость кишечника, она уложена в вид многочисленных пальцевидных выростов, называемых микроворсинками. За счет этого поверхность эпителиальных клеток многократно возрастает. Известно, что каждую микроворсинку можно представить в виде цилиндра диаметром 0,1 мкм и высотой 1 мкм. Причем лишь половина поверхности плазматической мембраны покрыта микроворсинками.

*Определите, во сколько раз увеличивается поверхность клетки за счет дополнительной поверхности микроворсинок.*

**Задача № 3.** Предположим, что нас интересует распределение различных фосфолипидов в плазматической мембране эритроцитов человека. Прежде всего, на долю фосфолипидов в бислое эритроцитов приходится 60 % массы всех липидов, тогда как доля холестерина составляет 30 %, а гликолипидов – 10 %. Фосфолипиды включают: фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, сфингомиелин, фосфатидилсерин

и некоторые другие, минорные, фосфолипиды. Чтобы выявить распределение этих фосфолипидов, зрелые эритроциты и их тени обрабатывают: 1) двумя различными фосфолипазами и 2) не проникающим через мембрану флуорохромом (SITS), который, связываясь химически с первичными аминогруппами, специфически метит их. Под действием сфингомиелиназы разрушается до 85 % сфингомиелина в случае эритроцитов (лизиса клеток при этом не происходит) и немного больше в случае теней эритроцитов. После обработки интактных эритроцитов смесью фосфолипаз из яда морских змей в среду выходят продукты расщепления фосфатидилхолина (лизиса клеток не происходит), а при обработке теней эритроцитов эти же фосфолипазы вызывают, кроме того, разрушение фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина. Реагент SITS метит почти полностью фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин в тенях эритроцитов и лишь около 1 % этих соединений в целых клетках. Результаты этих опытов представлены в таблице 7. Они позволяют судить о распределении четырех основных фосфолипидов в мембранах эритроцитов.

Таблица 7

*Чувствительность фосфолипидов в составе эритроцитов человека и в составе теней этих клеток к фосфолипазам и SITS*

Фосфолипид	Сфингомиелиназа		Яд морских змей		SITS	
	Эритроциты	Тени	Эритроциты	Тени	Эритроциты	Тени
Фосфатидилхолин	-	-	+	+	-	-
Фосфатидилэтаноламин	-	-	-	+	-	+
Сфингомиелин	+	+	-	-	-	-
Фосфатидилсерин	-	-	-	+	-	+

*Определите, какие фосфолипиды сосредоточены в обоих моно-слоях этих мембран, и есть ли такие.*

**Задача № 4.** В эксперименте изучали проницаемость искусственной бислоистой липидной мембраны для метиленового синего. Мембрана толщиной 10 нм разделяет камеру на 2 части. Концентрация метиленового синего с одной стороны мембраны равна  $10^{-3}$  моль/л, а с другой –  $2 \cdot 10^{-3}$  моль/л. Поток метиленового синего через мембрану постоянен и составляет  $3 \cdot 10^{-4}$  моль·см/с.

*Определите, чему равен коэффициент диффузии метиленового синего через бислойную липидную мембрану.*

**Задача № 5.** Исследовали пассивные электрические свойства биологической ткани. В первом эксперименте оказалось, что коэффициент поляризации Тарусова равен 4. Импеданс (суммарное сопротивление ткани) при частоте тока 10 кГц равен 10 кОм. Во втором эксперименте определили импеданс при частоте тока 1 мГц и 10 кГц. Он оказался, соответственно, равным 1 кОм и 5 кОм.

*Рассчитайте коэффициент поляризации Тарусова для ткани, использованной во втором эксперименте и импеданс ткани при частоте тока 1 мГц.*

**Задача № 6.** Измеряли силу тока определенной частоты, пропускаемого через ткань. Исследование проводили при последовательном и параллельном способе измерения тока. Оказалось, что при исходном равенстве омическая составляющая импеданса уменьшилась во столько же раз, во сколько увеличилась емкостная.

*Определите, как изменится импеданс ткани при переходе от последовательного к параллельному способу измерения тока одной частоты.*

**Задача № 7.** Импеданс ткани при мостовом измерении тока одной частоты в последовательном соединении составил 3 кОм. Известно, что емкостная составляющая в этих условиях повысилась в 2 раза.

*Определите, каковы условия изменения при этом омической составляющей для поддержания того же импеданса.*

**Задача № 8.** Исследовали электрические потенциалы бислойной липидной мембраны. Температура среды, в которой находилась мембрана, составила 200 °С. Концентрация ионов калия с одной стороны мембраны равна  $10^{-3}$  моль/л, а с другой –  $10^{-4}$  моль/л.

*Определите равновесный мембранный потенциал, создаваемый на бислойной липидной мембране ионами калия в данных условиях.*

**Задача № 9.** Емкость бислойной липидной мембраны составляет  $1 \text{ мкФ} \cdot \text{см}^{-1}$ , а ее равновесный мембранный потенциал – -61 мВ.

*Определите электрический заряд мембраны.*

**Задача № 10.** Исследования показали, что соотношение проницаемостей мембраны гигантского аксона кальмара для ионов калия, натрия и хлора для составляет 1:0,04:0,45. Соотношение концентраций снаружи/внутри клетки для ионов  $K^+$  равно 1/20;  $Na^+$  – 15/1;  $Cl^-$  – 1/2. Внутриклеточные концентрации ионов (в ммоль/л), соответственно, составили:  $C_{K^+}= 120$ ;  $C_{Na^+}= 6$ ;  $C_{Cl^-}= 60$ .

*Рассчитайте величину потенциала покоя гигантского аксона кальмара.*

**Задача № 11.** Исследовали активность натрий-протонного обменника в эритроцитах крысы. Обработка эритроцитов оубаином привела к снижению активности обменника.

*Объясните, какова причина снижения активности натрий-протонного обменника в данном случае.*

**Задача № 12.** Известно, что объем эритроцитов регулируется некоторыми ион-транспортными системами. Мембрана эритроцитов содержит  $Ca^{2+}$ -зависимые калиевые каналы, которые обеспечивают утечку ионов калия из эритроцитов при повышении внутриклеточной концентрации ионов кальция

*Объясните, каким образом изменится объем красных клеток крови при активации данных каналов.*

**Задача № 13.** Изучали поток формамида через плазматическую мембрану *Chara seratorphylla* толщиной 8 нм. Коэффициент диффузии его составил  $1,4 \cdot 10^{-8}$  см<sup>2</sup>/с, концентрация формамида в начальный момент времени снаружи была равна  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л, а внутри в 10 раз меньше.

*Рассчитайте величину потока формамида через плазматическую мембрану.*

**Задача № 14.** Исследовали люминисценцию заданного вещества. В ходе экспериментов установили, что оптическая плотность изучаемого вещества равна 0,06, а интенсивность люминисценции ( $I_1$ ) в 5 раз меньше интенсивности возбуждающего света. При расчетах учтите, что  $I_1=2,3I_0D$ .

*Рассчитайте квантовый выход люминисценции.*

**Задача № 15.** Известно, что оптическая плотность исследуемого раствора равна 0,08.

*Рассчитайте коэффициент пропускания исследуемого раствора.*

## ОТВЕТЫ НА СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

### Задача № 1.

Число молекул спектрина составляет  $3 \cdot 10^5$  молекул.

Число молекул белка полосы 3 составляет  $9 \cdot 10^5$  молекул.

Число молекул гликофорина составляет  $2,3 \cdot 10^5$  молекул.

### Задача № 2.

Площадь контакта клетки со средой за счет ворсинок увеличивается примерно в 20 раз.

### Задача № 3.

Фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин находятся во внутреннем монослое липидов. Фосфатидилхолин и сфингомиелин локализованы и во внешнем, и во внутреннем монослое.

### Задача № 4.

Коэффициент диффузии рассчитывается на основании уравнения Фика, он равен  $-3 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$ .

### Задача № 5.

Коэффициент поляризации Тарусова во втором эксперимента составляет 5, величина импеданса ткани – 2,5 кОм.

### Задача № 6.

Импеданс ткани уменьшится в 4 раза.

### Задача № 7.

Омическую составляющую нужно уменьшить на 5 кОм.

### Задача № 8.

Равновесный мембранный потенциал составляет -61 мВ.

### Задача № 9.

Электрический заряд мембраны равен  $17 \cdot 10^{-6} \text{ К}$ .

### Задача № 10.

Величина потенциала покоя мембраны составляет -51 мВ.

**Задача № 11.**

Оубаин ингибирует  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазу, что приводит к снижению градиента ионов натрия на мембране клетки. В результате активность натрий-протонного обменника снижается.

**Задача № 12.**

При активации  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых калиевых каналов ионы калия удаляются из клетки. Вслед за ними из клеток выходит вода, что приводит к сжатию эритроцитов.

**Задача № 13.**

Поток формамида через бислойную липидную мембрану равен  $0,315 \text{ моль/л} \cdot \text{см} \cdot \text{с}^{-1}$ .

**Задача № 14.**

Квантовый выход равен 1,45.

**Задача № 15.**

Коэффициент пропускания равен 0,83.

## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

### Основная

1. Антонов, В. Ф. Физика и биофизика для студентов медицинских вузов [Текст] : учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования, обучающихся по специальностям 060101.65 Лечебное дело, 060103.65 Педиатрия, 060105.65 Медико-профилактическое дело по дисциплине «Физика» / В. Ф. Антонов, Е. К. Козлова, А. М. Черныш ; Московский медицинский университет им. И. М. Сеченова, кафедра медицинской и биологической физики. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 472 с.

2. Медицинская и биологическая физика. Практикум: учебное пособие для студентов учреждений высшего образования по медицинским специальностям [Текст] / ред. В. Г. Лещенко. – Москва : ИНФРА-М, 2013. – 334 с.

3. Самойлов, В. О. Медицинская биофизика [Текст] : учебник для студентов, обучающихся по направлению бакалаврской подготовки «Техническая физика», по магистерским программам «Медицинская и биоинженерная физика» / В. О. Самойлов. – 3-е изд., испр. и доп. – СПб.: СпецЛит, 2013. – 591 с.

### Дополнительная

1. Лекции по биофизике [Текст] : учебное пособие для студентов, обучающихся по специальностям 04.08.00 Медицинская биохимия, 04.09.00 Медицинская биофизика, 04.10.00 Медицинская кибернетика / М. Б. Баскаков [и др.] ; рец.: Н. А. Барбараш, Д. А. Россиев ; Сибирский медицинский университет (Томск). – Томск : Сибирский государственный медицинский университет, 2009. – 200 с.

2. Болдырев, А. А. Биомембранология [Текст]: учебное пособие / А. А. Болдырев, В. А. Илюха, Е. И. Кяйвяряйнен. – Москва : ИНФРА-М, 2018. –186 с.

Учебное издание

**Ирина Викторовна Петрова  
Юлия Георгиевна Бирулина  
Алексей Валерьевич Носарев  
Татьяна Николаевна Зайцева  
Виктория Сергеевна Гусакова  
Светлана Валерьевна Гусакова**

# **СБОРНИК ПРАКТИЧЕСКИХ РАБОТ ПО БИОФИЗИКЕ**

**УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ**

Редактор Коломийцев А.Ю.  
Технический редактор Коломийцева О.В.  
Обложка Забоенкова И.Г.

Издательство СибГМУ  
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107  
тел. +7(3822) 901-101, доб. 1760  
E-mail: otd.redaktor@ssmu.ru

---

Подписано в печать 10.07.22  
Формат 60x84  $\frac{1}{16}$ . Бумага офсетная.  
Печать цифровая. Гарнитура «Times». Печ. л. 3,4. Авт. л. 2.  
Тираж 100 экз. Заказ № 16

---

Отпечатано в Издательстве СибГМУ  
634050, Томск, ул. Московский тракт, 2  
E-mail: lab.poligrafii@ssmu.ru