

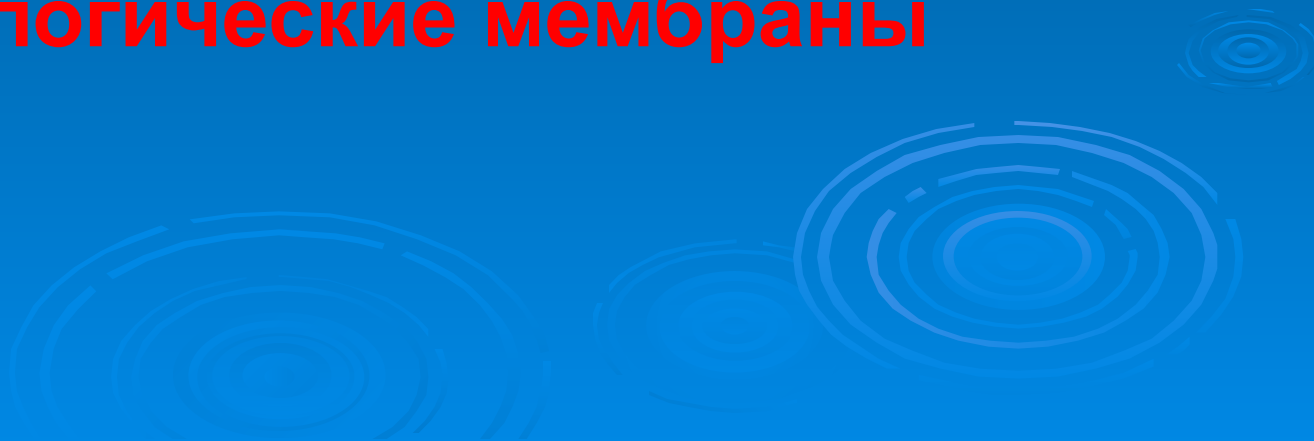
# БИОФИЗИКА КЛЕТКИ

## *Лекция 1.*

[Презентации по физике](#)

<http://prezentacija.biz/prezentacii-po-fizike/prezentacii-po-biofizike/>

## **Транспорт веществ через биологические мембраны**



# План лекции

- 1. Введение
- 2. Градиенты биологических систем
- 3. Ультраструктура и функции биологических мембран
- 4. Пассивный транспорт
  - 4.1. Диффузия
    - 4.1.1. Транспорт ионов с помощью подвижного переносчика
    - 4.1.2. Эстафетный перенос
    - 4.1.3. Перенос ионов через каналы биомембран
  - 4.2. Осмос
  - 4.3. Фильтрация
  - 4.4. Водный обмен между кровью и лимфой
- 5. Активный транспорт

# 1. Введение

- Структурной единицей живого организма является клетка, которой присущи все основные жизненные функции. Клетка - открытая термодинамическая система, которая обменивается с окружающей средой веществом, энергией и информацией.

- Биофизика клетки является разделом науки, который связывает воедино биофизические исследования, проводимые на атомном и молекулярном уровне с исследованиями, проводимыми на уровне органов и биологических систем в целом.

- В середине 19 века великий французский физиолог Клод Бернар высказал гипотезу существования плазматической мембраны, до него биологи-морфологи представляли клетку в виде комочков живого вещества, не имеющих оболочки.

- . Выживание организма в условиях непрерывно меняющейся среды обусловлено способностью живых систем сохранять свое стационарное состояние. Для обеспечения такого состояния у всех организмов - от простых до самых сложных - существуют различные анатомические, физиологические и поведенческие приспособления. Все они направлены на поддержание постоянства внутренней среды.

Положение о том, что именно постоянство внутренней среды определяет оптимальное условие для жизни и размножения организма было высказано К. Бернаром в 1857 году.

- Действительно, внутренняя среда высших животных обладает относительным постоянством физико-химических параметров. Для неё характерно постоянство температуры, рН, артериального давления, содержание кислорода, углекислого газа, различных ионов, сахаров и других физиологических констант, величины которых находятся в постоянной зависимости от структур биологической мембраны

- *В 1929 году крупнейший американский физиолог Уолтер Б. Кэннон, расширив концепцию К. Бернара, создал учение о гомеостазе*



□ . Гомеостаз - это универсальное свойство живых организмов активно сохранять стабильность работы всех систем организма в ответ на воздействия, нарушающие эту стабильность, и поддерживать динамическое постоянство внутренней среды, а также устойчивость основных физиологических функций организма.

- Это динамическое постоянство возможно только за счет непрерывного обмена веществом и энергией между внеклеточной и внутриклеточной средой - с одной стороны,
- и между внеклеточной средой и внешней средой, окружающей органы и организм в целом - с другой стороны.



- Такой обмен возможен лишь при наличии градиентов на границах перечисленных сред.



# 2. Градиенты биологических систем



- Под градиентом того или иного параметра системы для линейных функций подразумевают разность величин этого параметра  $X$  в двух точках пространства  $(A, B)$ , отнесенную к расстоянию  $AB$  между этими точками:

Заметим, что градиент - это вектор.

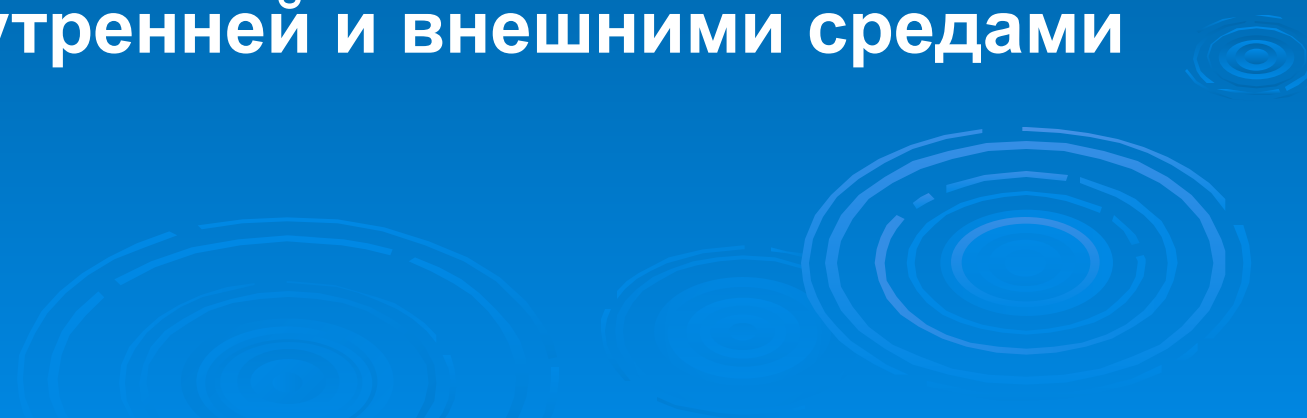
Обилие градиентов является одним из отличий организма от неживых систем. Наиболее выражены градиенты на границе между цитоплазмой и внеклеточной средой. На первый взгляд это не столь уж большая разница в содержании тех или иных веществ в клетке и вне её. Например, в цитоплазме нервного волокна млекопитающих содержится 150 мМ/л, а в межклеточной жидкости - 5,0 мМ/л ионов калия. Разница - 145 мМ/л.

- . Различие становится особенно ощутимым, если учесть, что эта разница поддерживается на ничтожно малом расстоянии - порядка  $10^{-8}$  м (толщина клеточной мембраны).
- Рассчитаем концентрационный градиент между клеточной мембраной по калию: пятнадцатимиллиардный градиент.

$$\text{grad}[K^+] = \frac{145}{10^{-8}} = 14,5 \cdot 10^9 \frac{\text{мМ}}{\text{л} \cdot \text{м}}$$



**Столь же велики концентрационные градиенты для других ионов, белков, углеводов и т.д. Не менее выражены для клетки такие градиенты, как осмотический и электрический. Важно понять, что именно градиент, а не просто разность величин, является движущей силой многих жизненных процессов, в частности, переноса веществ между клетками и внеклеточной средой, а также между внутренней и внешними средами организма.**



Многие патологические процессы, связанные с нарушением транспорта веществ в организме, часто обусловлены не уменьшением концентрации вещества, а увеличением расстояния между средами, в частности, за счет утолщения тех или иных тканевых структур. В мертвых тканях градиенты падают. Только живое в состоянии поддерживать неравновесное состояние своих сред.

- Концентрационные градиенты определяют стремление веществ перейти туда, где их концентрация ниже,**
- а осмотические заставляют воду переходить через мембрану в направлении более высокого осмотического давления.**

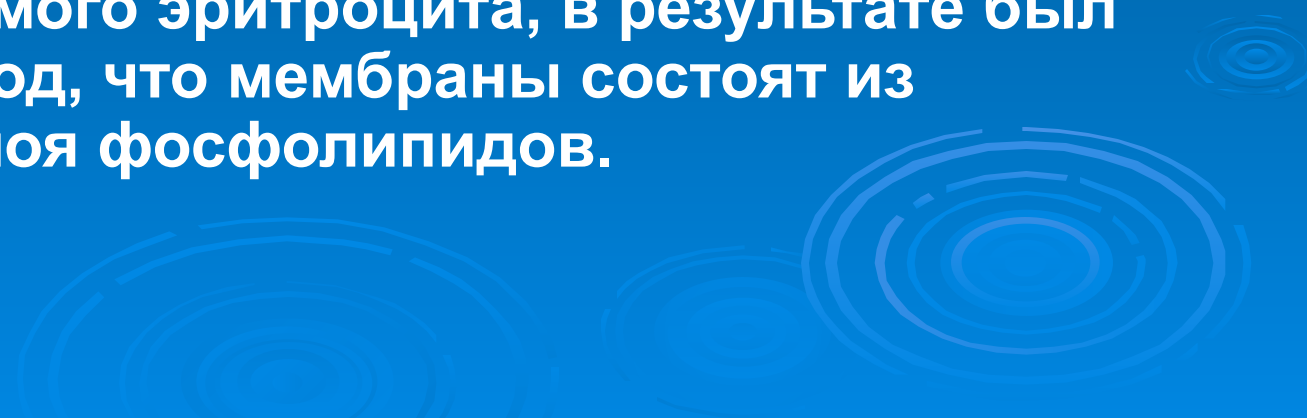
- Однако, наличие градиентов само по себе не означает, что вещества транспортируются через мембрану. Это в конечном счете определяется способностью мембраны пропускать через себя то или иное вещество. Разные мембраны неодинаково относятся к одним и тем же веществам. Эта способность мембран избирательно пропускать вещества обозначается термином - проницаемость мембран.

# 3. Ультраструктура и функции биологических мембран

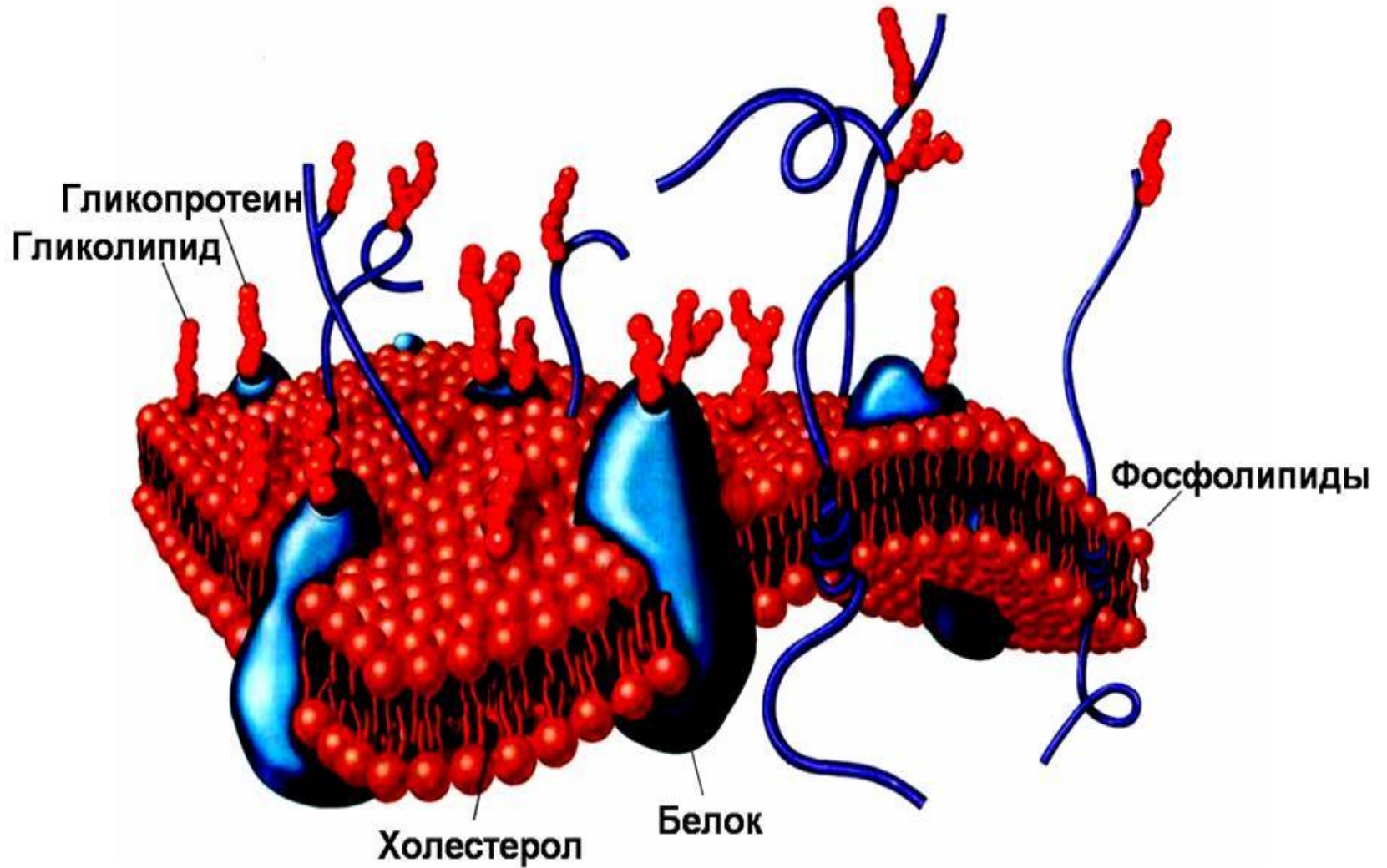
- Проникновение веществ в клетку и из клетки в большой степени зависит от свойств мембраны. Мембраны образуют оболочки всех органелл клетки: ядра, митохондрий, лизосом, аппарата Гольджи, эндоплазматического ретикулума. Раньше считалось, что мембраны состоят только из тонкого слоя липидов. В экспериментах с эритроцитами установили, что площадь липидов, входящих в состав мембраны, вдвое больше площади самого эритроцита, в результате был сделан вывод, что мембраны состоят из двойного слоя фосфолипидов.

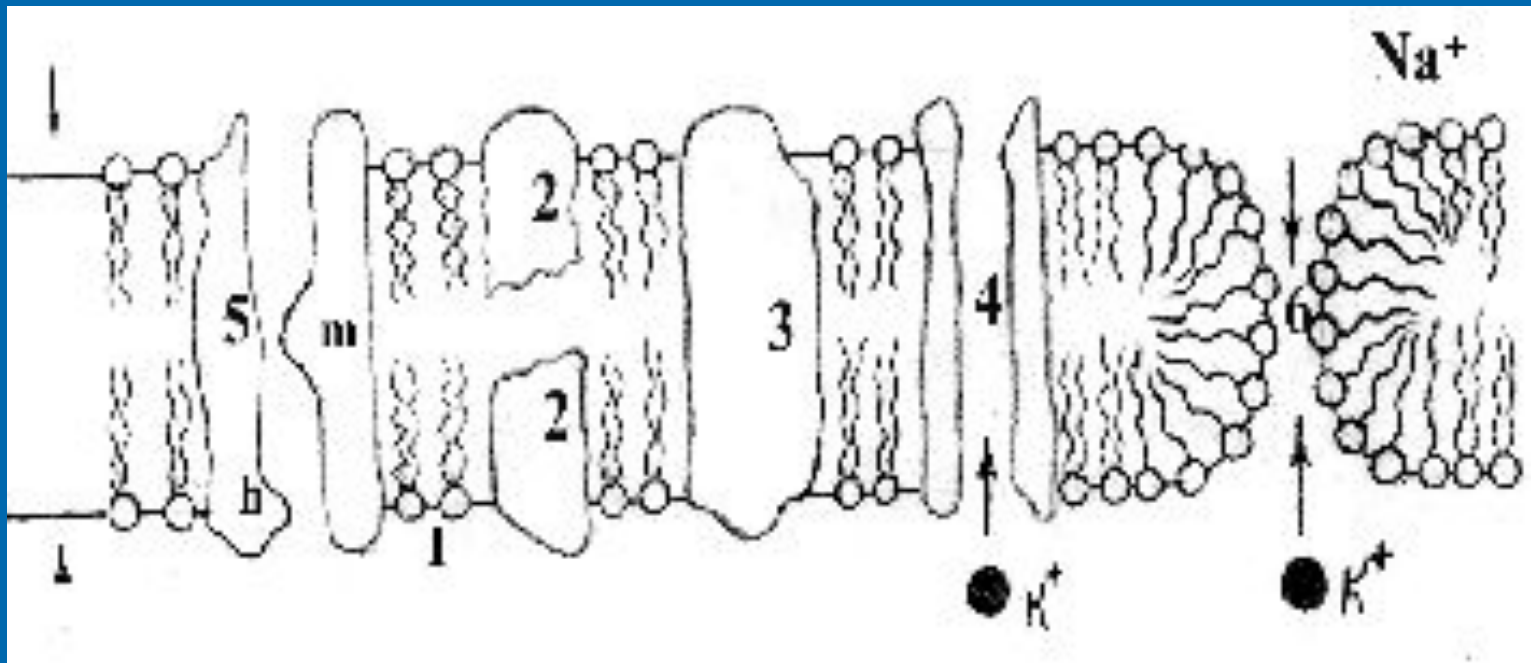


(3)



## Внеклеточное пространство





- 1 - двойной фосфолипидный слой,
- 2 - периферические белки,
- 3 - интегральные (трансмембранные белки),
- 4 - не потенциалзависимый канал (пример: специфический канал для ионов  $K^+$ , по нему осуществляется пассивный транспорт),
- 5 - потенциалзависимый канал,
- 6 - пора, возникающая в мембране в результате образования молекул лизолецитина.

Рис.2. Основные молекулярные комплексы биологической мембраны.



- Такая молекула называется лизолецитин. Оказавшись в составе мембран, такие молекулы образуют пору, например, на рис. 2 показана пора б. Мембрана теряет барьерные свойства. Это приводит к повышению проницаемости мембраны клеток для ионов натрия и некоторых других или к полному разрушению клеток. Например, при укусах некоторых змей наблюдается гемолиз эритроцитов. Проницаемости для всех ионов при образовании пор в мембране выравнивается. Потенциал покоя снижается. Митохондрия не может участвовать в синтезе АТФ, нервные клетки не могут проводить нервный импульс.
- Подобные процессы происходят при вирусных и бактериальных инфекциях, действии ионизирующего излучения и т.д.



- Действие многих лекарственных веществ направлено на восстановление барьерных свойств мембран клеток.
- В заключении этого раздела перечислим основные функции биологических мембран: барьерная, матричная, механическая и специфические - генерация и проведение биопотенциалов действия, рецепторная, энергетическая

# 4. Пассивный транспорт



- Перемещение веществ в клетку или из нее во внеклеточную среду может осуществляться многими способами. В зависимости от того, что является движущей силой перемещения, все виды перемещения веществ могут быть разделены на пассивный и активный транспорт. Пассивный транспорт - всегда за счет энергии, сконцентрированной в каком-нибудь градиенте, а не за счет АТФ. Пассивный всегда по направлению градиента, то есть от более высокого уровня к низкому

- Часто присутствуют несколько градиентов, тогда перенос вещества осуществляется по результирующей всех градиентов. Основные градиенты, присущие живым организмам - концентрационный, осмотический, электрический, гидростатический. В соответствии с этим имеются следующие виды пассивного транспорта: диффузия, осмос, электроосмос, аномальный осмос и фильтрация.

# 4.1. Диффузия



- Основной механизм пассивного транспорта, обусловленный концентрационным градиентом - диффузия.
- Диффузия - это самопроизвольный процесс проникновения веществ из области большей в область меньшей концентрации в результате теплового хаотического движения молекул.

- Математическое описание дал Фик: скорость диффузии  $dm / dt$  прямо пропорциональна градиенту концентрации и площади, через которую осуществляется диффузия.

$$\frac{dm}{dt} = -DS \frac{dC}{dx}$$

$D$  - коэффициент пропорциональности. Знак "-" означает, что диффузия идет из области большей концентрации в область меньшей.

- Проникновение растворенных веществ, обладающих электрическим зарядом, зависит не только от концентрационного градиента, но и от электрического градиента мембраны и может возникнуть движение против концентрационного по электрическому градиенту. Совокупность концентрационного и электрического градиента называется **электрохимическим градиентом**



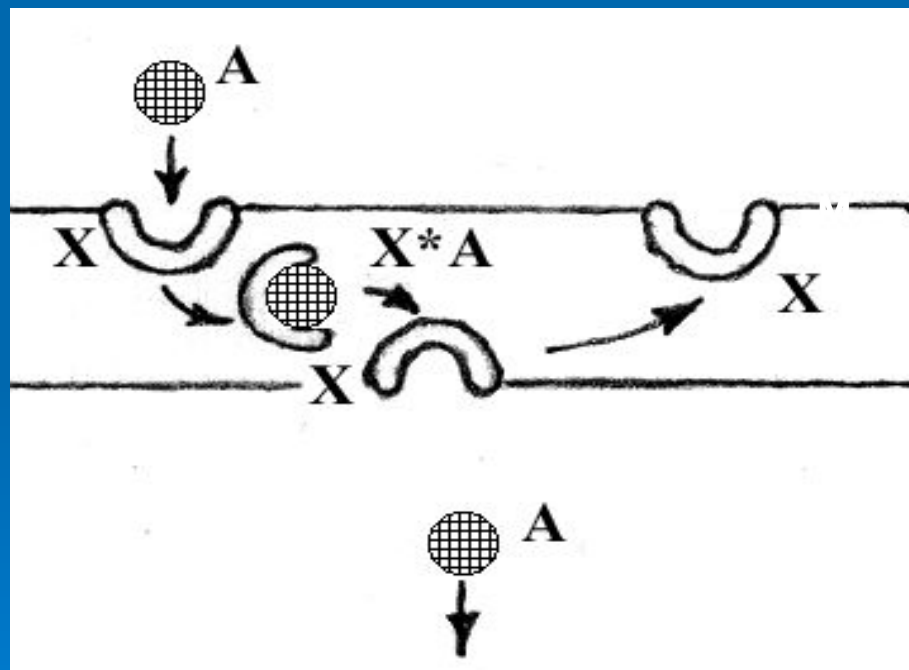
- Помимо простой существует облегченная диффузия и ее разновидность – обменная диффузия. Рассмотрим несколько видов этого процесса:

4.1.1. Транспорт ионов с помощью подвижных переносчиков

4.1.2. Эстафетный перенос



# 4.1.1. Транспорт ионов с помощью подвижных переносчиков



снаружи

мембрана

внутри

A - транспортируемое вещество,  
X - подвижный переносчик,  
X \* A - комплекс подвижного переносчика с транспортируемым веществом

Рис.3. Пассивный транспорт подвижных переносчиков

Таким образом, например, переносит ионы калия антибиотик валиномицин. Молекула валиномицина, имеющая внутри полость, захватывает в нее ион калия на одной стороне мембраны и переносит этот ион на другую сторону мембраны.

В присутствии валиномицина отношение коэффициентов проницаемостей для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  биологической мембраны

равен:

$$\frac{P_{\text{K}^+}}{P_{\text{Na}^+}} = 10^4$$

В норме, в условиях простой диффузии это отношение равно 25

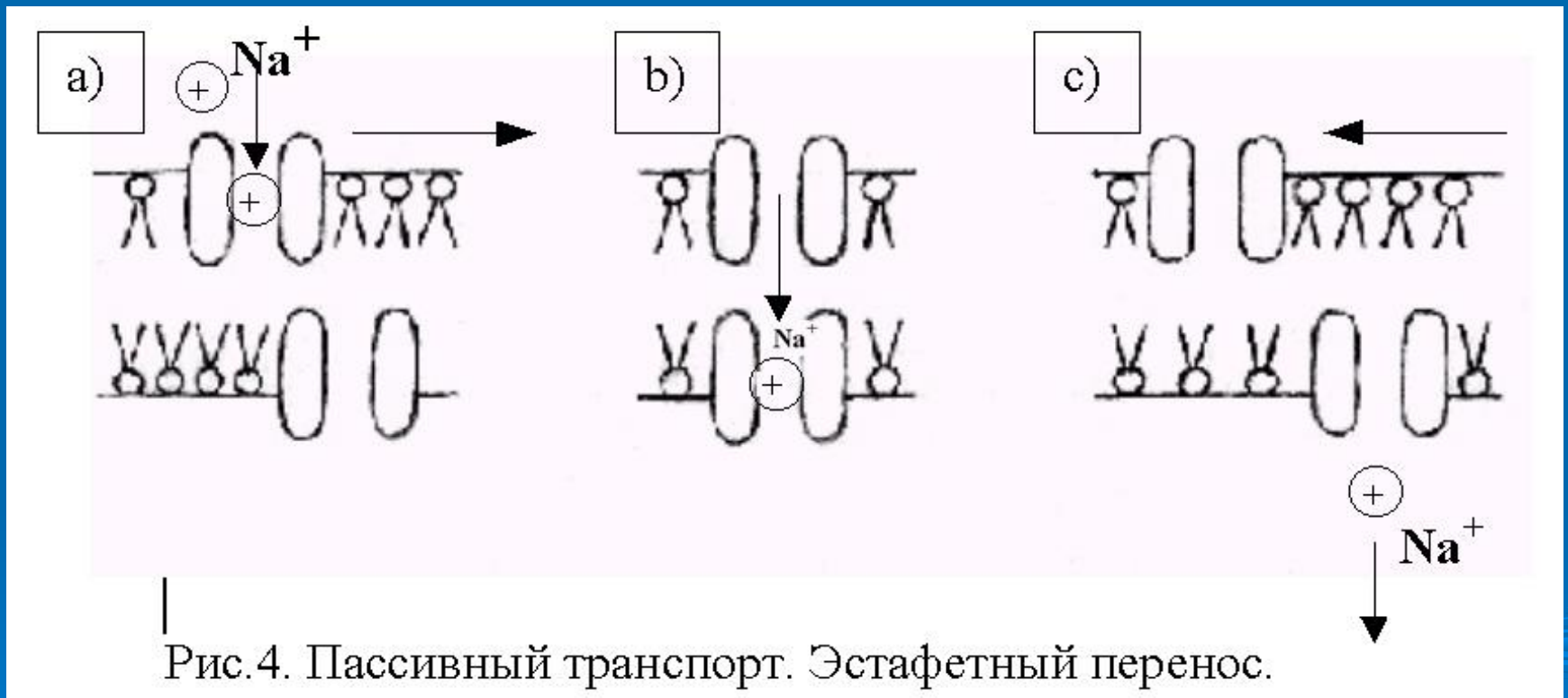
Существуют переносчики для глюкозы, лактозы, аминокислот, глицерола, нуклеотидов и т.д.;

## 4.1.2. Эстафетный перенос

- Эстафетный перенос при обменной диффузии осуществляется с помощью двух или нескольких носителей через мембрану частицы. При этом частица последовательно передается в мембране от одного носителя к другому.

Примером эстафетного переноса может служить движение через мембрану ионов натрия  $\text{Na}^+$  с помощью антибиотика грамицидина.

Грамицидин, создающий в мембране полуканал,

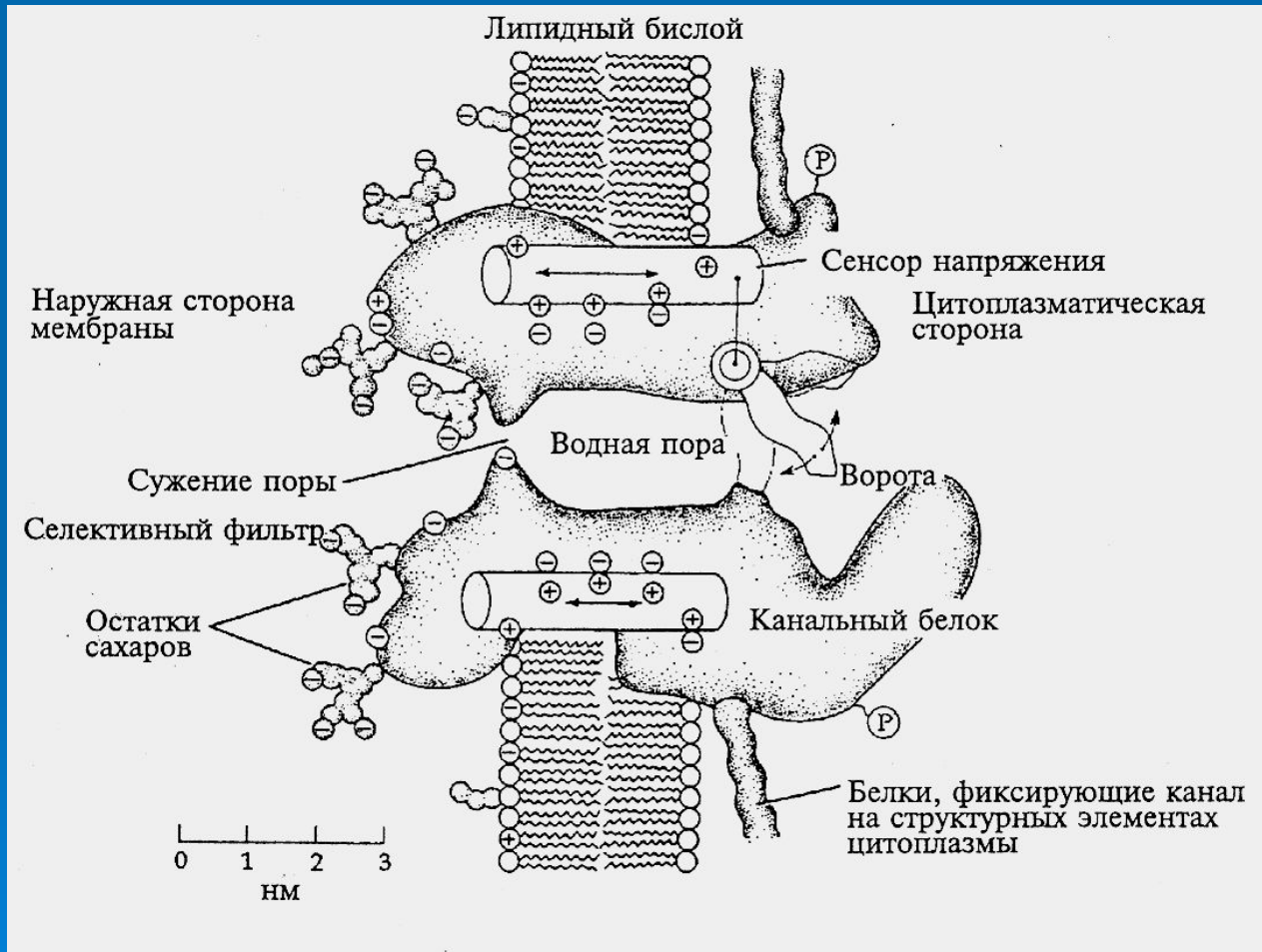


захватывает ион натрия на наружной стороне мембраны.

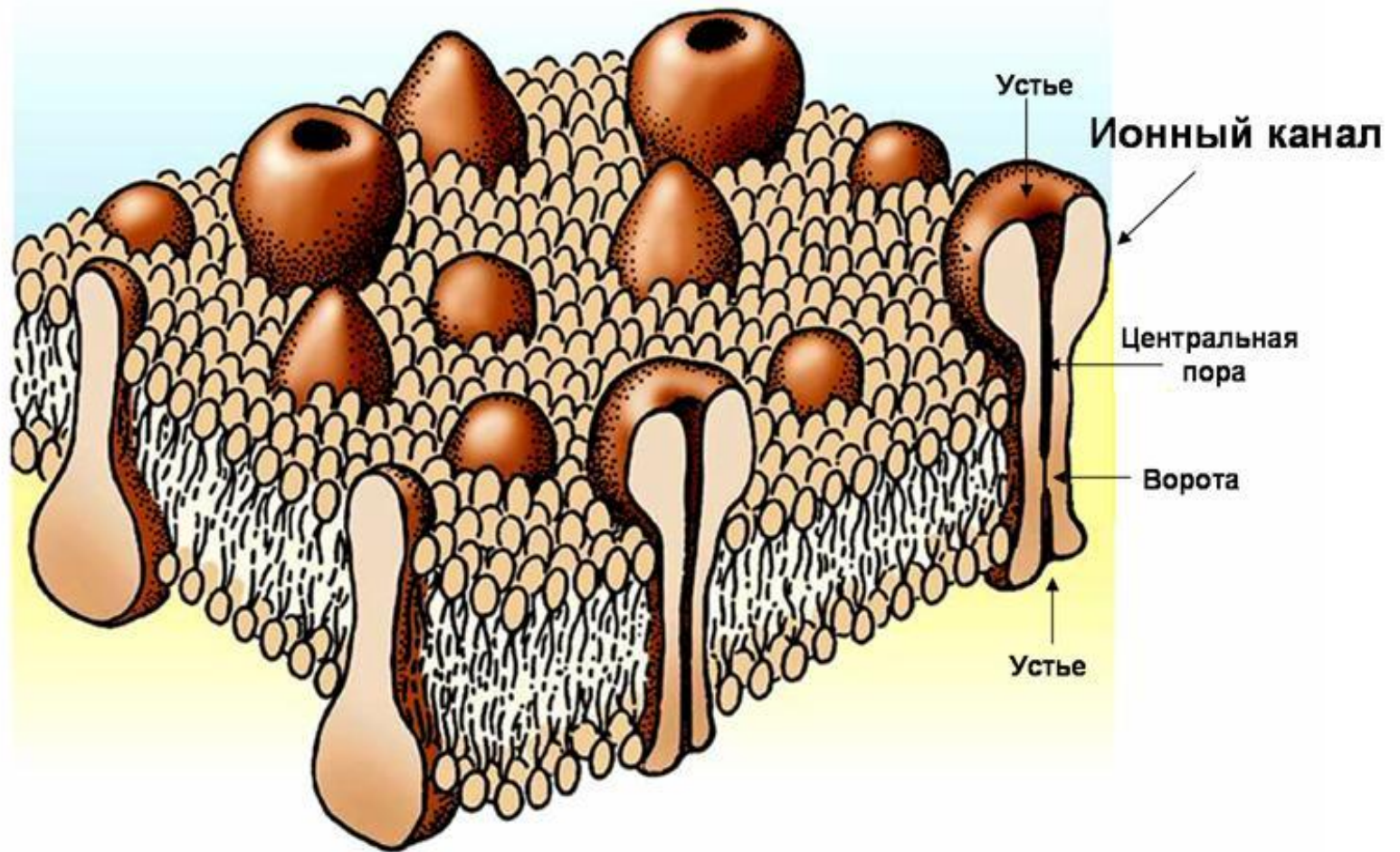
- Диффундируя вдоль мембраны, молекула грамицидина встречается с другой молекулой грамицидина, находящейся на внутренней стороне мембраны, и передает ей ион натрия. Молекулы грамицидина образуют временную цепочку поперек мембраны и «по эстафете» передают ионы  $\text{Na}^+$  от одной молекулы переносчика к другой. Затем ион натрия выбрасывается внутрь клетки. Так как грамицидин фактически увеличивает проницаемость мембраны для ионов  $\text{Na}^+$ , т.е. нарушает нормальное функционирование клетки, он используется в виде мази как контрацептив, блокирующий функционирование сперматозоидов и яйцеклеток. **Вещества, облегчающие перенос ионов через мембрану, называются ионофорами (нонактин, валиномицин, грамицидин, моноксин и т.д.).**

- Одна из главных особенностей пассивного транспорта - его избирательность. Существуют переносчики для D-глюкозы, но нет переносчиков для L-глюкозы. В случае простой диффузии избирательность определяется сродством переносимой частицы к гидрофильной голове фосфолипида.

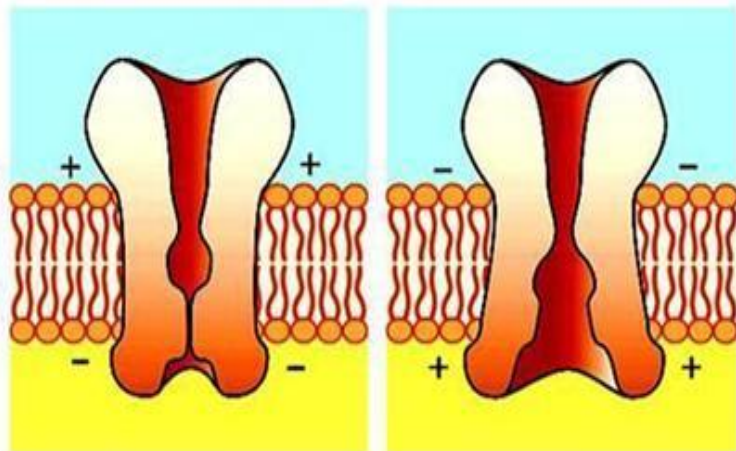
# 4.1.3. Перенос ионов через каналы биомембран



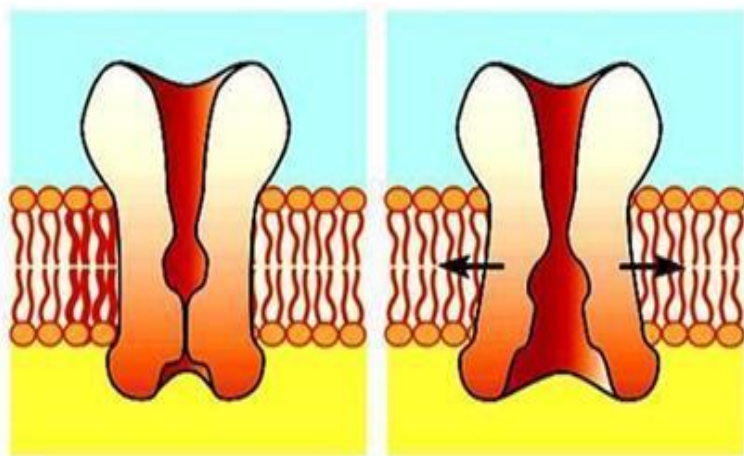




## Активация физическими изменениями

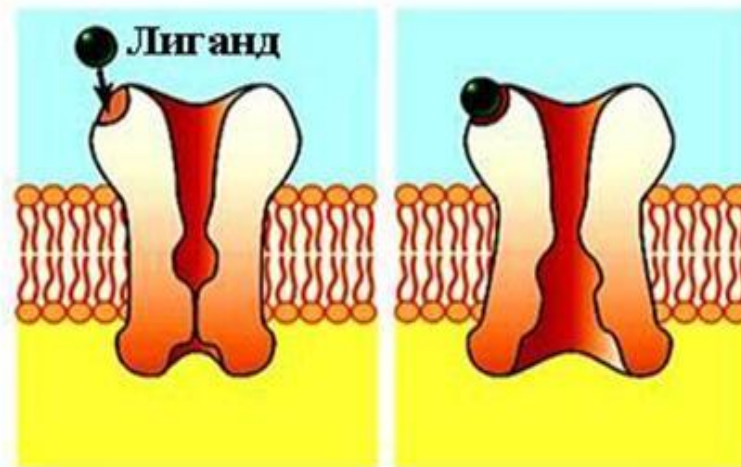


**А** Потенциал-активируемые каналы

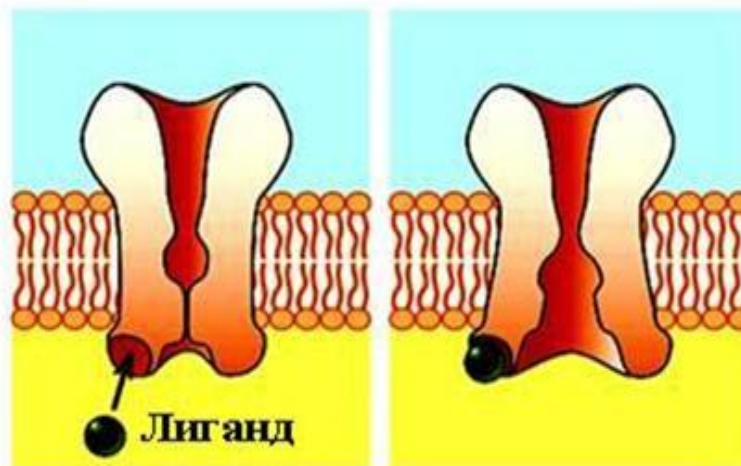


**Механо-чувствительные каналы**

## Активация химическими веществами



**Б** Внеклеточная активация



**Внутриклеточная активация**

- В основе многих физиологических процессов (передача электрических и химических сигналов, мышечное сокращение, секреторный процесс и т.д. ) лежит прежде всего работа ионных каналов. Их
- характеристики могут изменять некоторые фармакологические препараты и яды.
- Существуют блокаторы ионных каналов, например, лекарственные вещества, антагонисты **кальция** (**верапамил, нифедипин** и др.) они временно блокируют ионные каналы, снижая мышечный тонус сосудов. Есть лекарственные вещества, временно блокирующие натриевые каналы, например, анестетик - лидокаин, новокаин. Они снижают местную чувствительность, устраняют чувство боли.

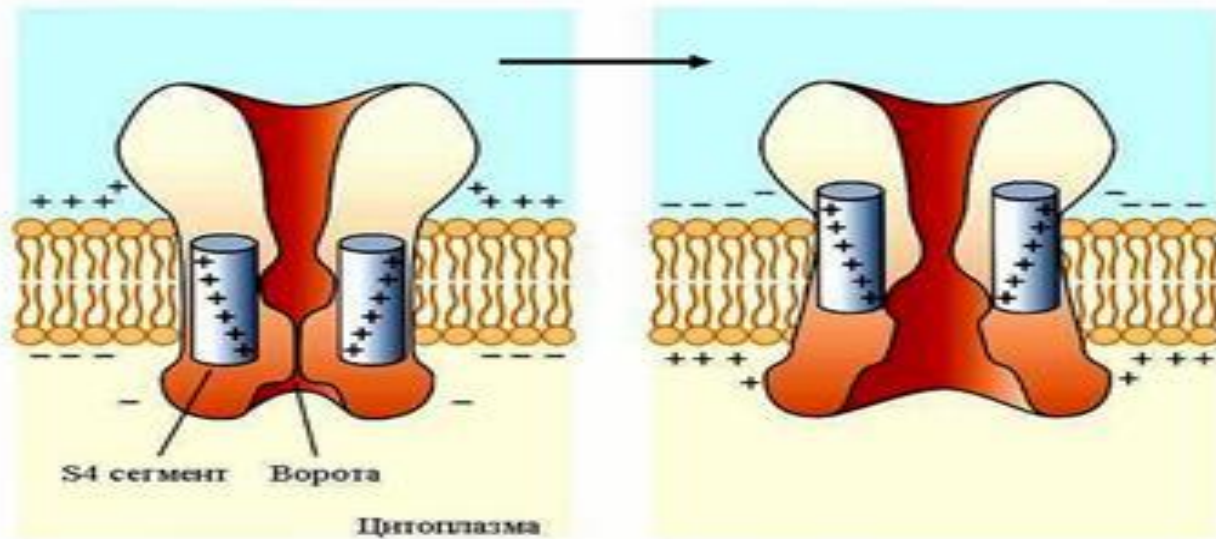
- Необратимо блокируют Na - ионные каналы такие паралитические яды, как тетродотоксин, вырабатываемый рыбой *Spheroïdus rubrides* (фугу) или сакситоксин, продуцируемый некоторыми планктонами.



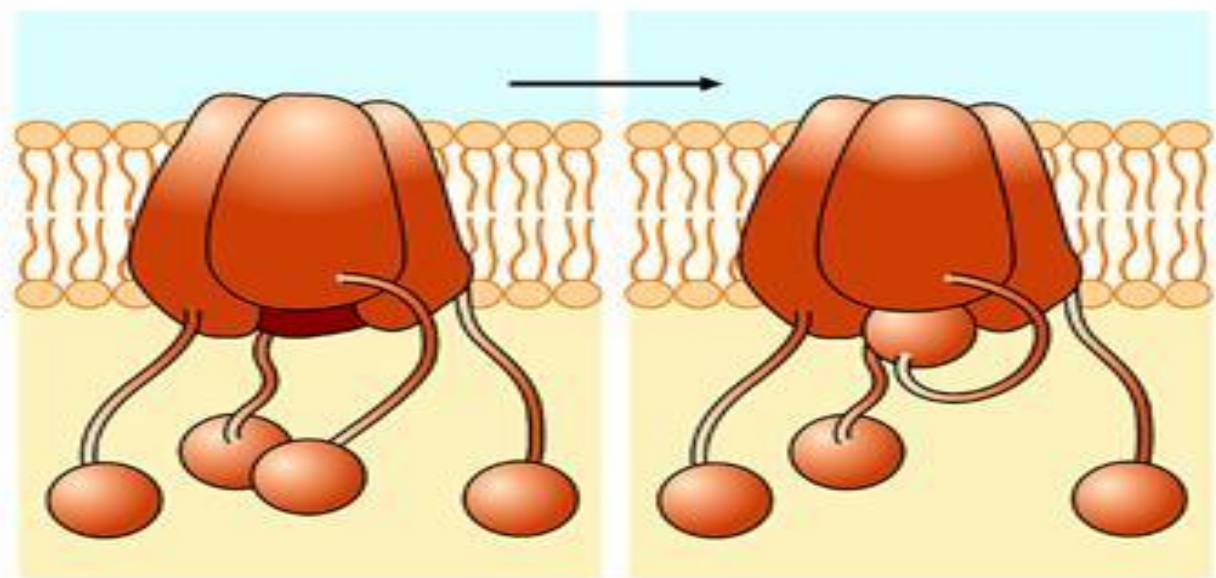
- Сильный блокирующий эффект калиевых ионных каналов оказывает тетраэтиламмоний.
- Существуют также активаторы, открывающие ионные каналы, например, лекарственный препарат миноксидил, активирует калиевые каналы.

- Каналам биомембран свойственна характерная избирательность для ионов (**селективность**), а также способность открываться и закрываться при различных воздействиях на мембрану (**воротная функция**). Переходы каналов из открытого состояния в закрытое (воротный механизм) могут быть обусловлены изменениями мембранного потенциала, взаимодействием с определенными химическими веществами, специфическим фосфорилированием каналов

**А**



**Б**



- Кроме вышеописанных каналов в мембране находятся неспецифические каналы для пассивного транспорта ионов (в первую очередь для ионов калия). Эти каналы **не имеют воротных механизмов, всегда открыты** и почти не меняют свое состояние при электрических воздействиях на мембрану.



## 4.2. Осмос

- Клеточные мембраны обладают свойством полупроницаемости, то есть способностью хорошо пропускать одни вещества, например, воду, и плохо другие. Вода проходит в результате осмоса



- Осмос- это движение молекулы воды через полупроницаемую мембрану из области меньшей в область большей концентрации растворенного вещества. Сила вызывающая это движение - осмотическое давление.

- Осмос, по существу, представляет собой диффузию молекул растворителя. За меру осмотического давления принимают то механическое давление, например гидростатическое, которое уравнивает осмотическое давление и выравнивает потоки молекул растворителя в одну и другую стороны. Осмотическое давление зависит от количества растворенных частиц и от температуры.

- $P=iRCTR$ - универсальная газовая постоянная,
- $i$  - изотонический коэффициент - показывает во сколько раз увеличивается количество частиц при диссоциации молекулы вещества. Для неэлектролитов  $i=1$ .
- Осм. давление крови человека **7,6–7,8** атм.

## 4.3.Фильтрация

- Кроме осмоса, перенос воды может осуществляться путем фильтрации при наличии градиента гидростатического давления. Фильтрация - движение жидкости через поры какой-либо перегородки под действием гидростатического давления.

- Фильтрация - движение жидкости через поры какой-либо перегородки под действием гидростатического давления. под давлением.

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\pi r^4 \Delta P}{8\eta l}$$

$\Delta P$  - разность давлений в начале и в конце поры,,

$l$  - длина поры,

$\eta$  - коэффициент вязкости жидкости.

$r$  - радиус поры,

## 4.4. Водный обмен между кровью и лимфой

- Явление фильтрации и осмоса имеют особое значение в процессе обмена воды между кровью и тканями. Осмотическое давление крови человека 7,6 - 7,8 атмосфер. Это давление является суммой давлений всех растворенных в плазме крови веществ.

- Особое значение в водном обмене между кровью и тканевой жидкостью имеет та часть общего осмотического давления, которая обусловлена высокомолекулярными веществами - белками. Эта часть осмотического давления называется онкотическим давлением. Величина осмотического давления в 200 раз превосходит величину онкотического давления. Несмотря на это онкотическому давлению принадлежит основная роль в поступлении воды в кровеносное русло из тканевой жид

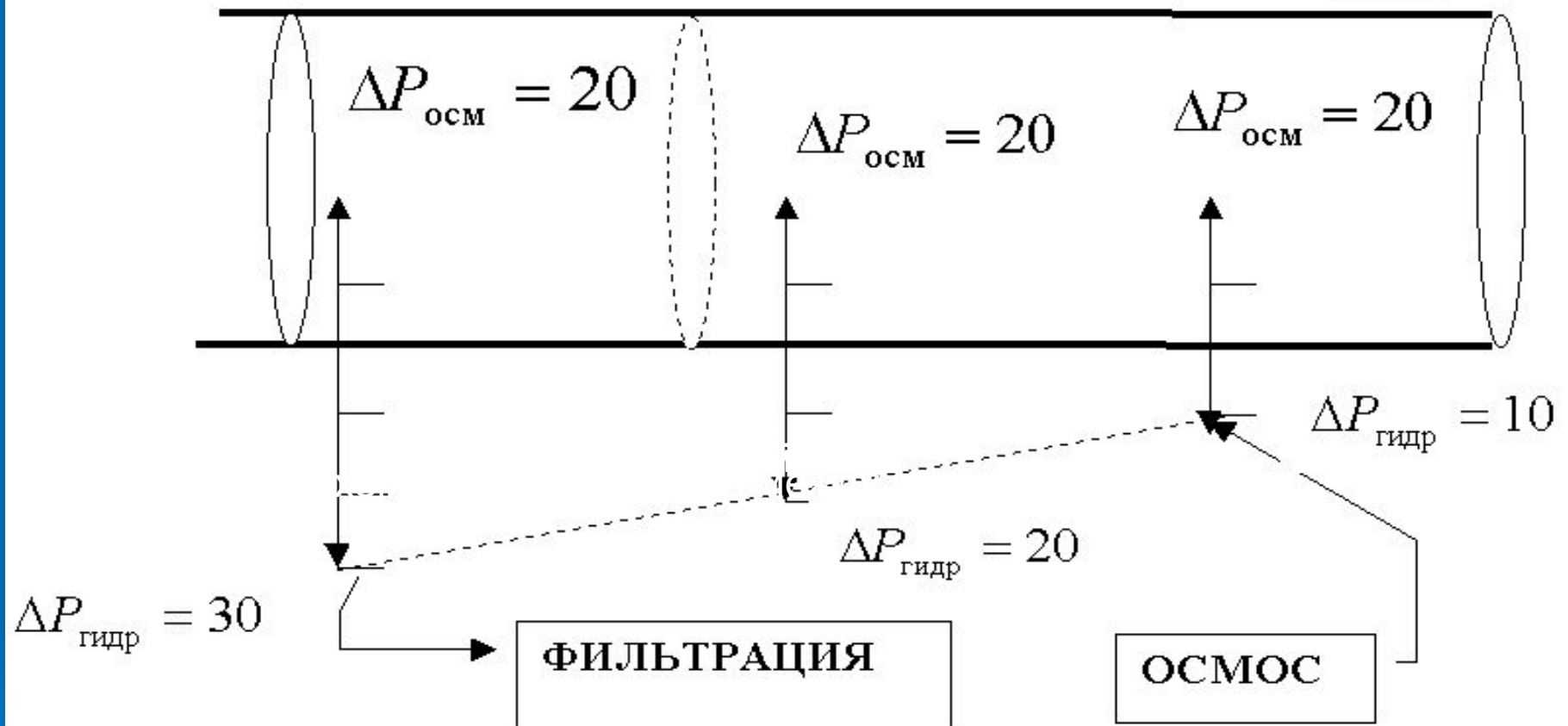


- Онкотичесое давление крови человека равно 30 мм.рт.ст. ,а тканевой жидкости и лимфы 10 мм.рт.ст. Под действием разности онкотического давления крови и лимфы величиной 20 мм.рт.ст. вода поступает из лимфы в кровь. Одновременно с градиентом онкотического давления ( ) существует и градиент гидростатического давления, обусловленный работой сердца ( ). В артериальном конце капилляра гидростатическое давление крови 30 мм.рт. ст.. На протяжении капилляра кровяное давление падает: в середине оно равно 20 мм.рт.ст, а в венозном конце - 10 мм.рт.ст..

артериальный  
конец

КАПИЛЛЯР

венозный  
конец



- Соответственно, если сравнить значения градиентов онкотического и гидростатического давлений в различных участках капилляров, то очевидно, что в артериальном конце преобладает гидростатическое давление - наблюдается фильтрация, в результате которой вода выходит из кровяного русла, а в венозном конце преобладает онкотическое давление, т. е. наблюдается осмос, и вода поступает из ткани в лимфу

- В норме процессы фильтрации и осмоса скомпенсированы. При патологиях, например: лучевая болезнь – нарушение проницаемости мембран, при долгих голоданиях, гипертонии, шоке, ожогах, при больших кровопотерях уменьшается градиент онкотического давления, и тогда фильтрация воды преобладает над осмосом, вследствие этого наблюдаются отеки.

# 5. Активный транспорт

- Перенос молекул и ионов против электрохимического градиента, осуществляемый клеткой за счет энергии метаболических процессов, называется активным транспортом.
- Осуществляя такой транспорт, клетка совершает работу, которая называется концентрационной или осмотической. Накопление клеткой вещества, содержащегося в окружающей среде в малых количествах, и выведение тех веществ, концентрация которых в окружающей среде значительно больше, чем в клетке, обеспечивается активным транспортом.

- $A = mRT \ln C_1/C_2$  A-концентрационная работа,  $m$ -количество молей вещества, перенесенных через мембрану,  $T$  - абсолютная температура,  $C_1$  и  $C_2$  концентрации ионов внутри и вне клетки.

- У человека в покое примерно 30 - 40 % всей энергии, образующейся в ходе метаболических процессов, расходуется на активный транспорт. В тканях, где активный транспорт особенно интенсивен, потребляется много кислорода даже в покое; так мозг человека составляет  $1/50$  массы тела, а потребляет в покое  $1/5$  всего кислорода. Активный транспорт - одно из удивительных свойств живых организмов.

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



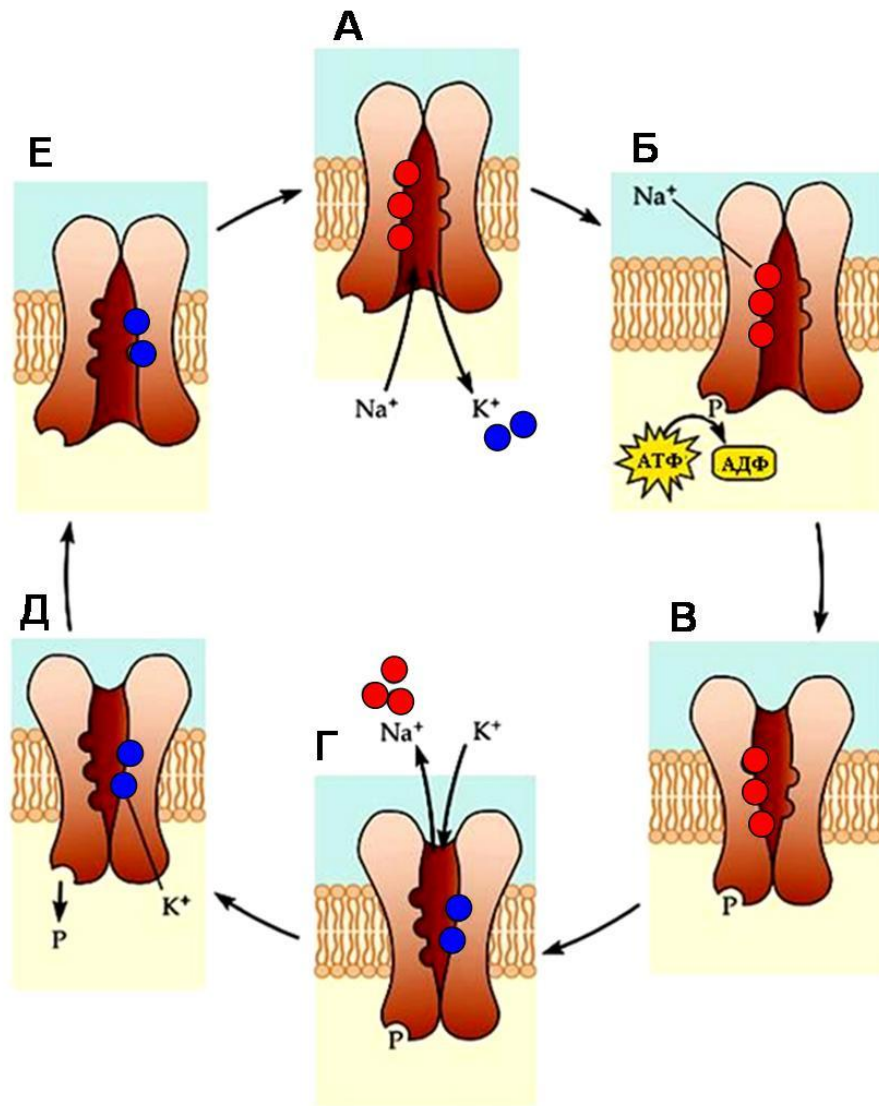
- Изучение систем активного транспорта, называемых биологическими насосами, является важной задачей исследования клеточных мембран. Нарушение активного транспорта приводит к гибели клетки. Отключение  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  насоса на 10 минут приводит к изменению ионного состава внутри клетки на 40 - 50 %.

□ В покое мембрана не является абсолютно непроницаемой для любого вида ионов. Диффузионные потоки, не будь им противодействия, рано или поздно выровняли бы состав по обе стороны мембраны. Для восстановления и поддержания необходимой концентрации ионов внутри клетки в мембране содержится специальный аппарат, обеспечивающий их активный транспорт против градиента их собственной концентрации.

Активный транспорт ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  осуществляется двумя типами "насосов"  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  и  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ .

- Наиболее характерная черта таких насосов - перенос вещества против градиентов. Следовательно, необходимо энергетическое обеспечение такого процесса. Организм должен за счет своей свободной энергии преодолеть физико-химические градиенты, повернуть вспять движение веществ. Значит, второй особенностью активного транспорта является наличие источника энергии для его осуществления. Причем эта энергия поступает из химических реакций

- Рассмотрим этот процесс на примере  $K^+$ - $Na$  насоса. Ионы  $K^+$  и  $Na^+$  вводятся и выводятся из клетки и в клетку против концентрационного градиента. Клетка очень строго следит за содержанием в своей цитоплазме названных ионов



- При повышении концентрации ионов натрия активируется так называемая калий-натрий зависимая АТФ-аза, этот фермент содержащийся в плазматической мембране, активирует гидролиз АТФ.
- Активируя гидролиз АТФ, он обеспечивает фосфорилирование переносчика, который выносит натрий из клетки. На внешней поверхности мембраны происходит ионный обмен натрия на калий внутри ферментного комплекса, после этого обмена белок-переносчик совершает обратный переворот с переносом калия внутрь клетки. Ион калия и неорганическая фосфатная группа (P) освобождается от белка-переносчика, который в свою очередь возвращается в исходное состояние. Подсчитано, что за полный цикл 1 молекула АТФ обеспечивает перенос через клеточную мембрану 3 иона  $\text{Na}^+$  и 2 иона  $\text{K}^+$ .

# Факторы, характеризующие систему активного транспорта.

- 1. Перенос веществ против электро-химических градиентов.
- 2. Наличие источника энергии (АТФ).
- 3. Необходимость переносчика вещества (молекула - белковой природы).
- Присутствие фермента, который активирует этот процесс – транспортной АТФ-азы.
- Однако вся эта система не работает до появления определенного стимула, которым обычно служит нарастающая концентрация транспортируемого вещества.

# Роль активного транспорта в физиологическом процессе

- Активный транспорт необходим:
- Для поддержания высокой концентрации ионов  $K^+$  внутри клетки, этим самым он обеспечивает постоянство величины потенциала покоя (см. раздел 2.3.).
- Для поддержания низкой концентрации ионов  $Na^+$  внутри клетки, что, с одной стороны, обеспечивает работу механизма генерации потенциала действия, а с другой стороны, обеспечивает сохранение нормальной осмолярности объема клетки (см. раздел 2.4.).
- Поддерживая стабильный концентрационный градиент  $Na^+$ ,  $Na^+ - K^+$  насос способствует напряженному транспорту аминокислот, сахаров через клеточную мембрану.



# **БИОФИЗИКА КЛЕТКИ**

## **ЛЕКЦИЯ 2**

### **Биоэлектрические потенциалы**



# План лекции

- 1. Методы измерения потенциала
- 2. Модель Нернста
- 3. Потенциал покоя
- 4. Потенциал действия
- 5. Распространение нервного импульса вдоль возбудимого волокна

# 1. Методы измерения мембранного потенциала.

- Это явление лежит в основе возбудимости клеток, регуляции внутриклеточных процессов, работы нервной системы, регуляции мышечного сокращения, рецепции. Одна из важнейших функций биологической мембраны - генерация и передача биопотенциалов. В медицине на исследовании электрических полей, созданных биопотенциалами органов и тканей, основаны диагностические методы: электрокардиография, электроэнцефалография, электромиография и другие. Практикуется и лечебное воздействие на ткани и органы внешними электрическими импульсами при электростимуляции.



Луиджи  
Гальвани  
(1737-1798)



Алессандро  
Вольта  
(1745-1827)



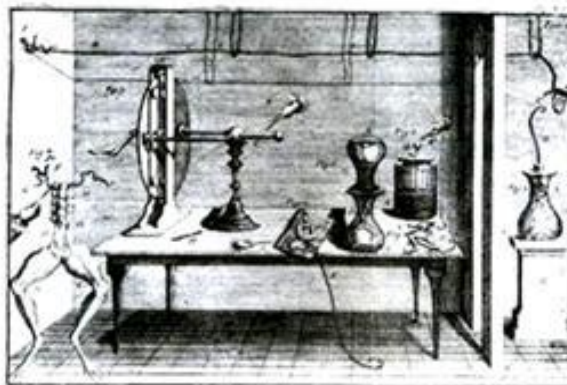
Карло  
Маттеучи  
(1781-1862)



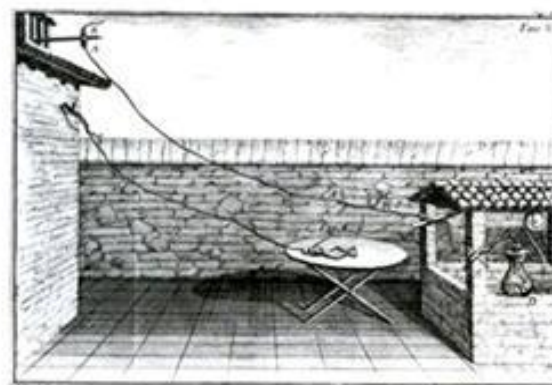
Эмиль  
Дюбуа – Реймон  
(1818-1896)



«Балконный опыт»



Лаборатория Гальвани



- В процессе жизнедеятельности в клетках и тканях могут возникать разности электрических потенциалов:
- окислительно-восстановительные потенциалы - вследствие переноса электронов от одних молекул к другим;
- мембранные - вследствие градиента концентрации ионов и переноса ионов через мембрану.
- Биопотенциалы, регистрируемые в организме, - это в основном мембранные потенциалы.

□ Мембранным потенциалом называется разность потенциалов между внутренней (цитоплазматической) и наружной поверхностями мембраны:

□ . 
$$\Delta\varphi_M = \varphi_{\text{вн}} - \varphi_{\text{нар}}$$

□ В дальнейшем для упрощения написания формул величину  $\Delta\varphi_M$

□ будем обозначать просто как  $\varphi_M$ .

- Прогресс в исследовании биопотенциалов обусловлен:
- разработкой микроэлектродного метода внутриклеточного измерения потенциалов;
- созданием специальных усилителей биопотенциалов (УПТ);
- выбором удачных объектов исследования крупных клеток и среди них гигантского аксона кальмара. Диаметр аксона кальмара достигает 0,5 мм, что в 100-1000 больше, чем диаметр аксонов позвоночных животных, в том числе человека. Гигантские, в сравнении с позвоночными, размеры аксона этого проворного и ловкого головоногого моллюска имеют большое физиологическое значение - обеспечивают быструю передачу нервного импульса по нервному волокну. Для биофизики гигантский аксон кальмара послужил великолепным модельным объектом для изучения биопотенциалов (недаром выдвигались предложения поставить памятник кальмару - животному, которому так многим обязана наука, подобно существующим памятникам лягушке в Париже и собаке под Санкт-Петербургом).

- В гигантский аксон кальмара можно ввести микроэлектрод, не нанеся аксону значительных повреждений.
- Стеклянный микроэлектрод (1) представляет собой стеклянную микропипетку с оттянутым очень тонким кончиком (диаметр 0,1-0,5 мкм).



- Металлический электрод такой толщины пластичен, и не может проколоть клеточную мембрану, кроме того, он поляризуется. Для исключения поляризации электрода используются неполяризующиеся электроды, например, серебряная проволока (3), покрытая солью, помещенные в раствор или, заполняющий микроэлектрод

- Второй электрод сравнения (4) - располагается в растворе (6) у наружной поверхности клетки (5) (рис. 11). Регистрирующее устройство осциллограф.

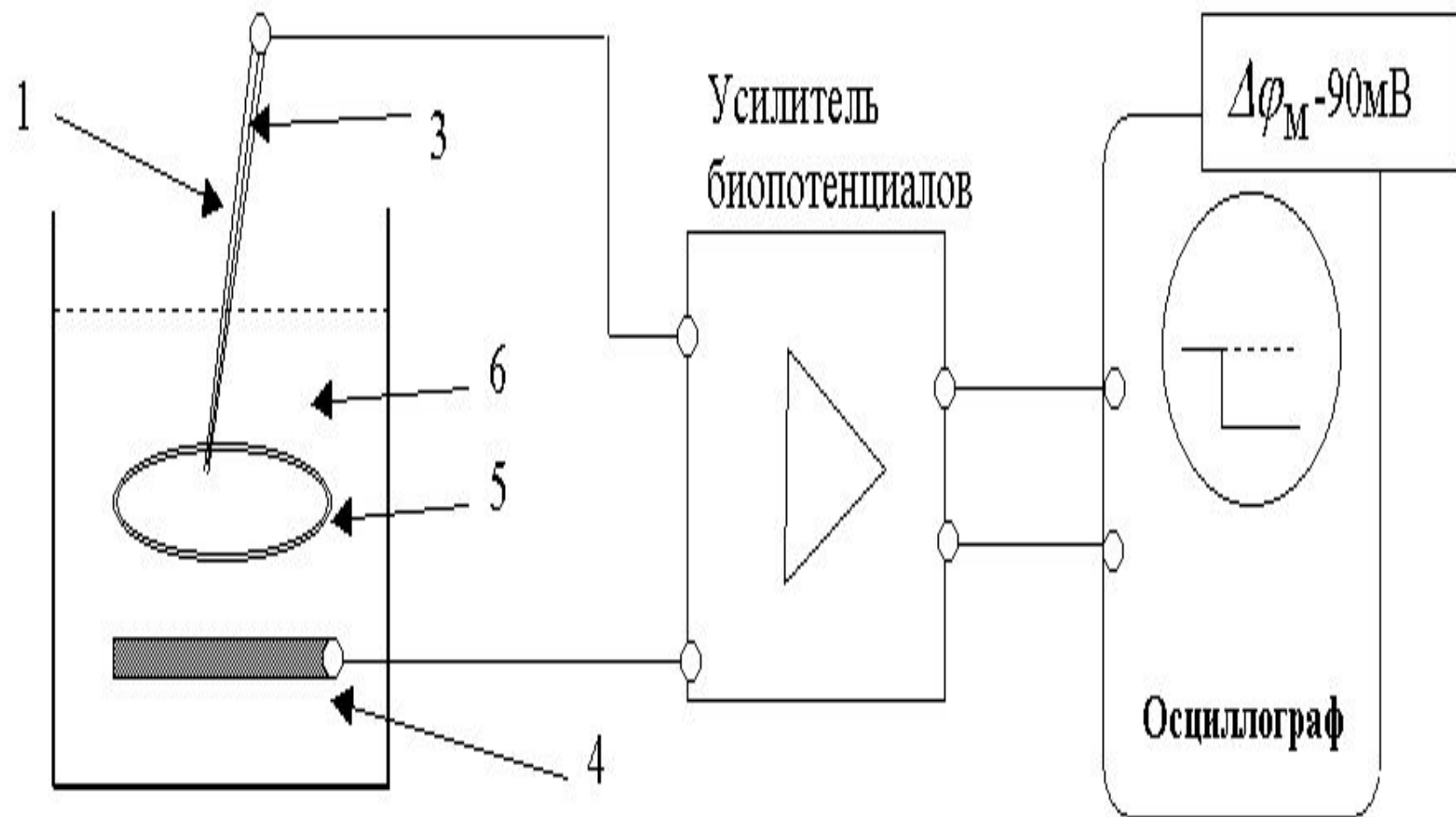
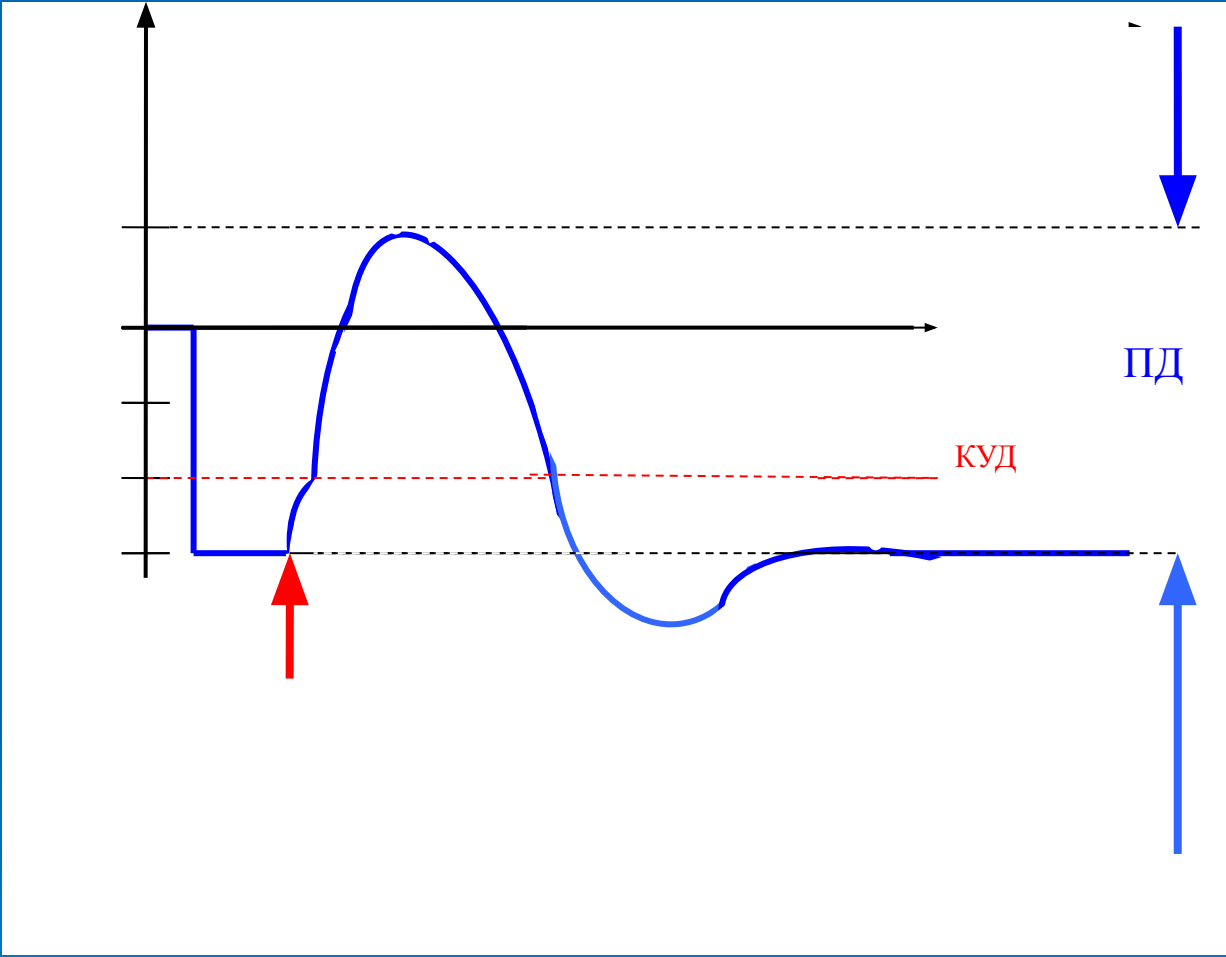
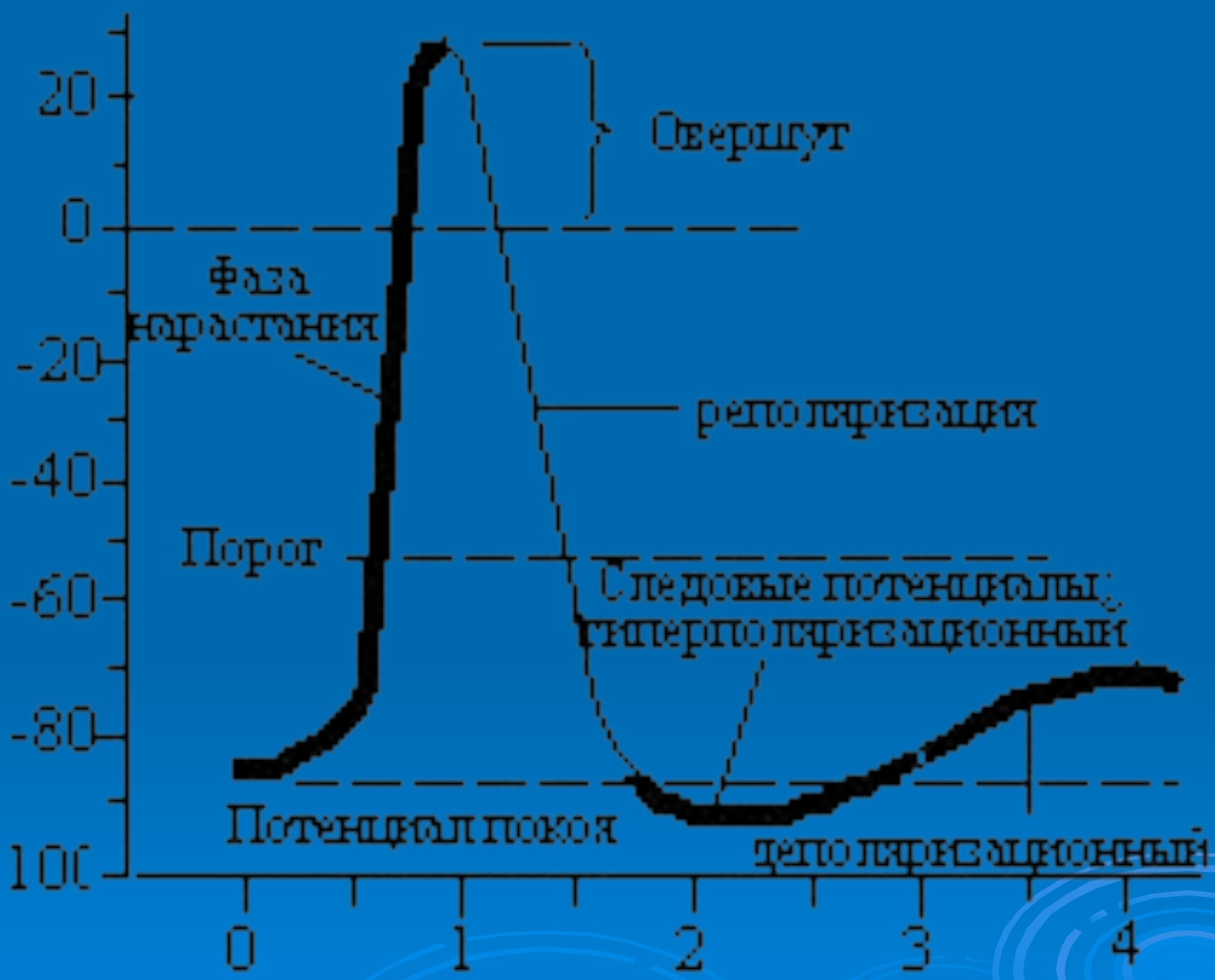


Рис.11. Регистрация мембранных потенциалов клетки.

- Микроэлектродный метод дал возможность измерить биопотенциалы не только на гигантском аксоне кальмара, но и на клетках нормальных размеров: нервных волокнах других животных, клетках скелетных мышц, клетках миокарда и других





- Биопотенциалы, электрическая активность клеток животного и растительного происхождения, обусловленная неравномерным распределением электролитов внутри и вне клеток. Мембранный потенциал (МП, потенциал покоя) определяется трансмембранным градиентом концентрации калия (K) (внутри клеток концентрация K выше) и остается постоянным длительное время, пока клетка не активируется внешним воздействием. При этом внутренняя часть клеток имеет отрицательный заряд. Переход клеток в активное состояние вызывается быстрым сдвигом МП в положительном направлении - потенциалом действия (ПД), для которого характерно несколько фаз: фаза деполяризации, обусловленная входом натрия (Na) внутрь клеток, вызывающим изменение поляризации клетки, - овершут; фаза реполяризации, в течение которой восстанавливается исходный потенциал вследствие выхода K из клеток; следовые (деполяризационные и гиперполяризационные) потенциалы. Постоянство и восстановление исходного распределения электролитов внутри клеток обеспечивается Na/K насосом. На рис. - временный ход потенциала действия.

- Другим эффективным методом измерения потенциала мембраны стал метод локальной фиксации потенциала ("Patch Clamp"). Суть метода заключается в том, что микроэлектрод тонким концом, имеющим диаметр 0,5-1 мкм, присасывается к мембране таким образом, чтобы в его внутренний диаметр попал ионный канал. Тогда, используя схему фиксации потенциала, можно измерять токи, которые проходят только через одиночный канал мембраны, а не через все каналы одновременно, как это происходит при использовании стандартного метода фиксации потенциала, описанного выше.



## 2. Элемент Нернста

- Самой простой и адекватной моделью является элемент Нернста (Рис.12.). Сосуд, в котором находится растворы одной и той же соли, но разной концентрации, разделен пористой перегородкой ( $C_1 > C_2$ ).

□ ). Вследствие разницы концентрации, ионы диффундируют, причем один из ионов, как правило, катион диффундирует быстрее и более разбавленный раствор приобретает знак катиона. По обе стороны перегородки образуется разность потенциалов, которую называют **диффузионной разностью потенциалов.**

- При этом ЭДС, возникающая в концентрационном элементе, образованном раствором одной соли, определяется из уравнения Нернста.

$$\varphi = \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_1}{C_2}$$

- $R$  - газовая постоянная ( $R=8,316$  Дж/к-моль),  $T$  - абсолютная температура,
- $F$  - число Фарадея (96500 кл/моль),
- $n$ - валентность,  $C_1$  и  $C_2$  молекулярные концентрации ионов по обе стороны мембраны.

# Уравнение Нернста

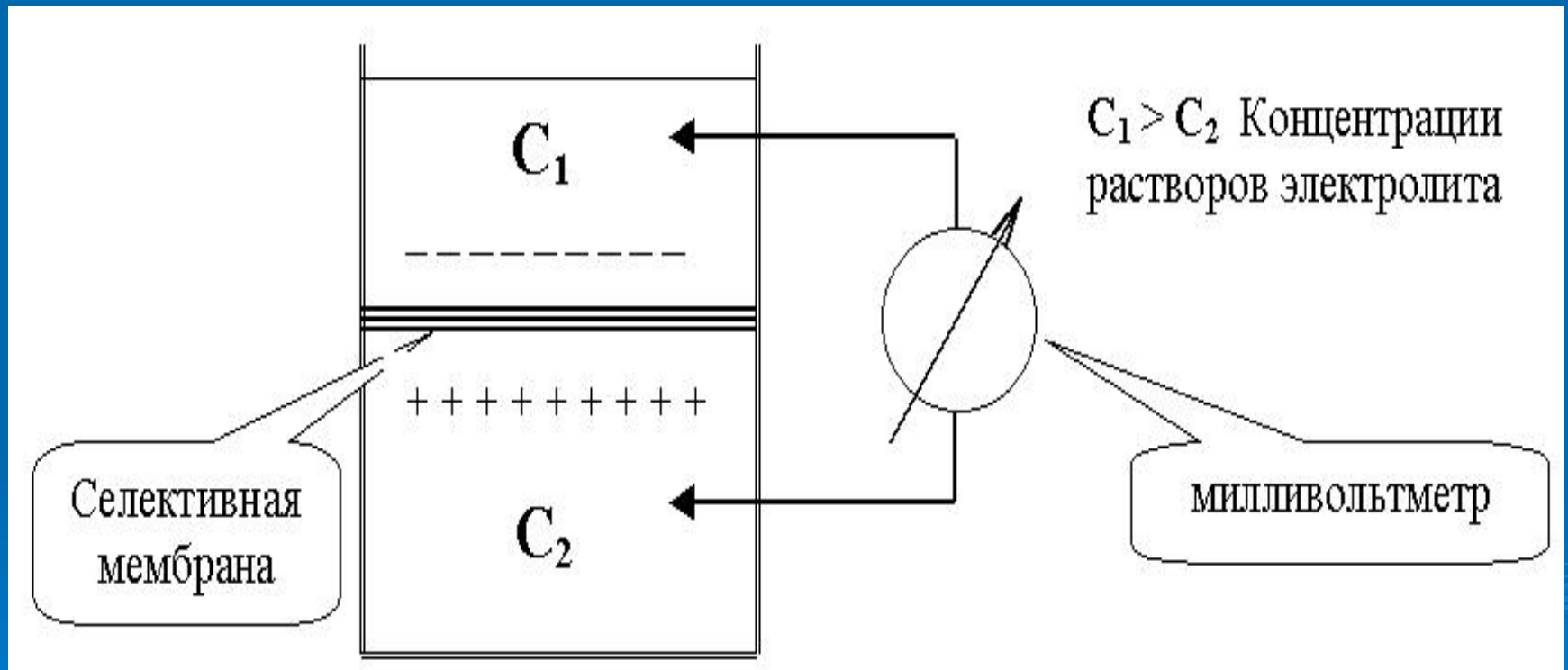
$$\varphi = \frac{RT}{nF} \ln \frac{C_1}{C_2}$$



В реальных условиях, в клетке, разница скорости движения анионов и катионов обусловлена присутствием полупроницаемой мембраны. Без нее ЭДС концентрированного элемента быстро падает. Поэтому потенциалы, возникающие в таком элементе, называются не диффузионными, а мембранными.



# Элемент Нернста



- Теория электролитической диссоциации была впервые применена и объяснена в механизме биоэлектrogenеза В.Ю. Чаговцем (1896) слушателям ВМА, в дальнейшем развил учение Ю. Бернштейн и лауреаты Нобелевской премии (Ходжкин, Кац, Хакси).

# 3. Потенциал покоя.

- Установлено, что цитоплазма клеток существенно отличается по химическому составу от внеклеточной жидкости, находящейся в межклеточном пространстве (рис. 13.)





Ионы	Среда	
	Внеклеточная	Внутриклеточная

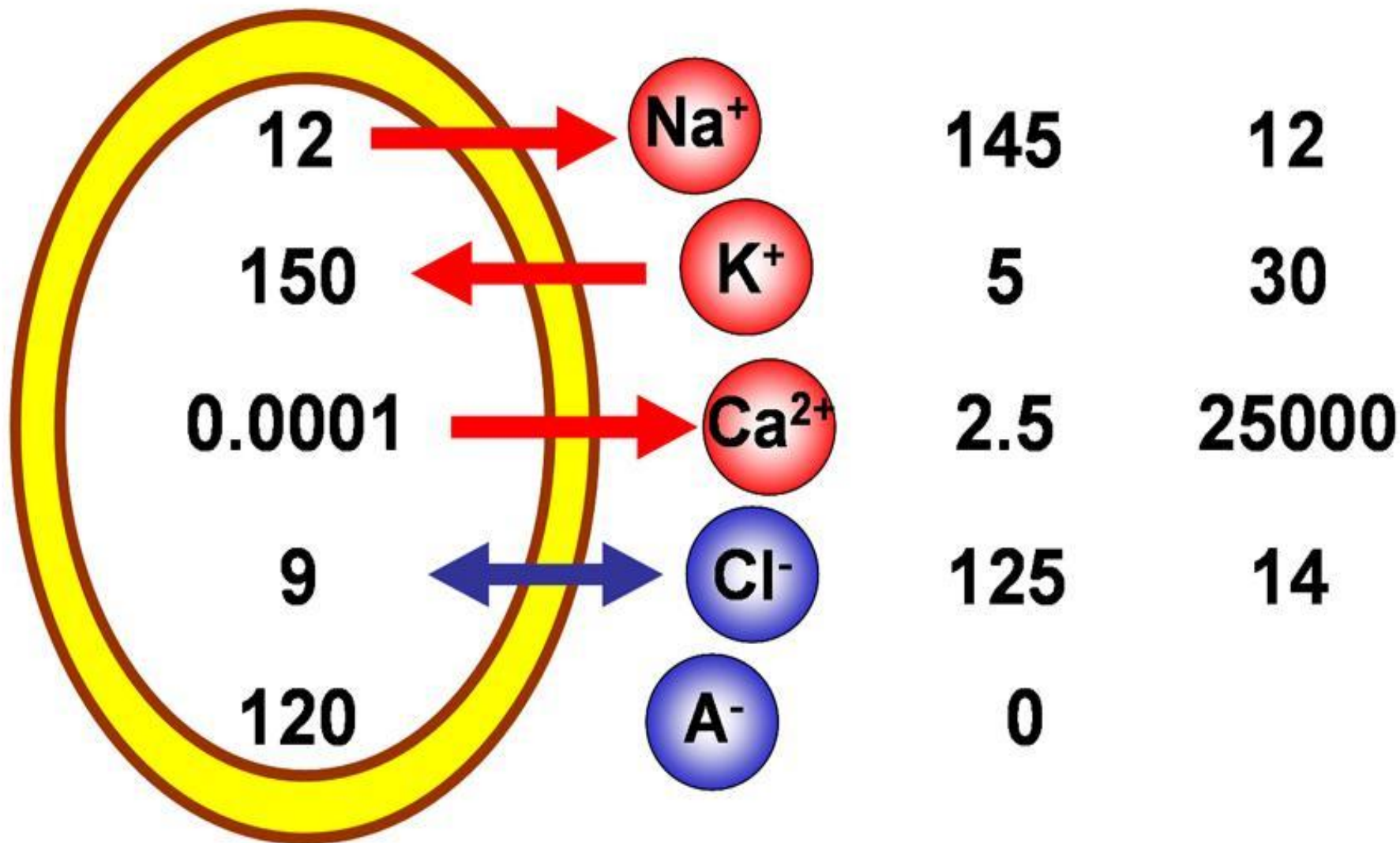
К	1	41
Na	10	1
Cl	13	1

Рис. 13. Относительная концентрация ионов внутри и вне клетки.

Внутриклеточная  
концентрация

Внеклеточная  
концентрация

Градиент  
≈



- Разность ионных концентраций создает силу, стремящуюся выровнять содержание ионов, но мембрана препятствует этому процессу. Мембраны обеспечивают избирательную проницаемость для различных ионов. Вследствие этого в тканях наблюдается неодинаковая скорость диффузии через клеточные мембраны катионов и анионов, что при наличии концентрационных градиентов служит непосредственной причиной возникновения мембранных потенциалов. Их называют биопотенциалами

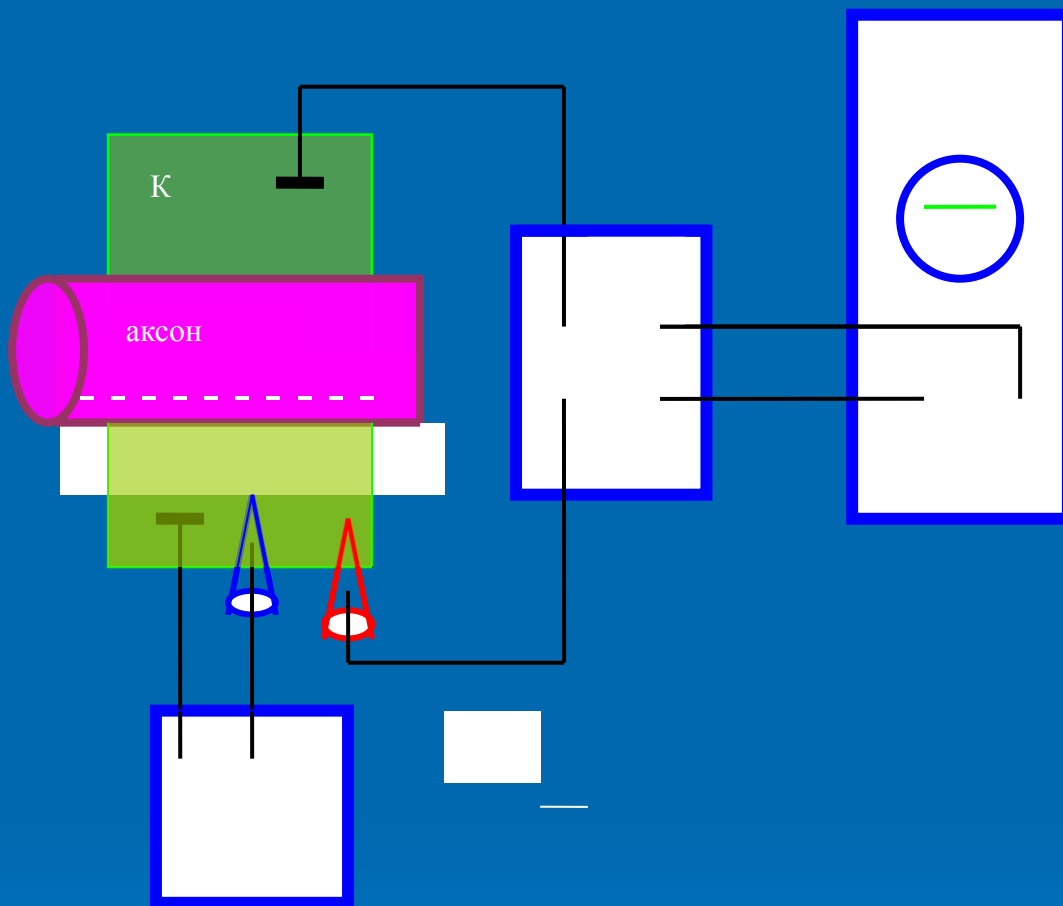
- Таким образом, источником электричества в живой ткани служит концентрационный элемент, образованный растворами электролита, имеющего неодинаковую концентрацию в цитоплазме и межклеточной жидкостью. При рассмотрении живых тканей в качестве концентрационного элемента необходимо учитывать диффузию через клеточную мембрану не одного иона, а всех, концентрации которых неодинаковы внутри и вне клетки. Это обстоятельство учитывает уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца.

# уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца.

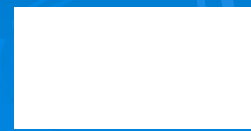
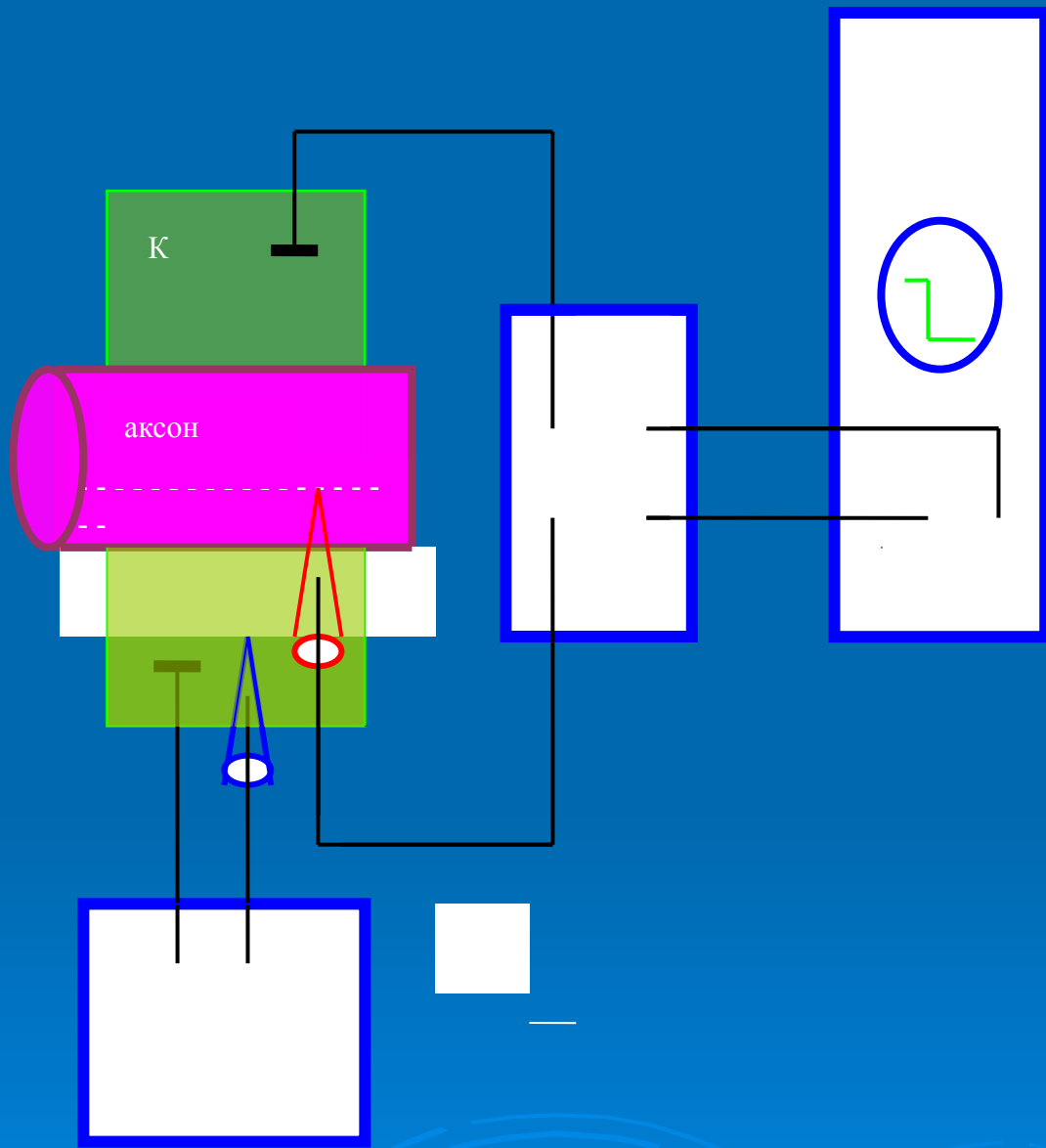
$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e + P_{Cl} [Cl^-]_e + \dots + P_A [A^-]_e}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_i + \dots + P_A [A^-]_i}$$

- Уравнение Гольдмана позволяет рассчитать разность потенциалов, существующую в разных клетках между цитоплазмой и межклеточной средой в покое и при возбуждении.

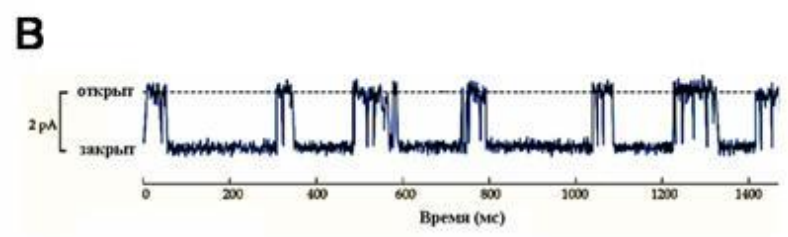
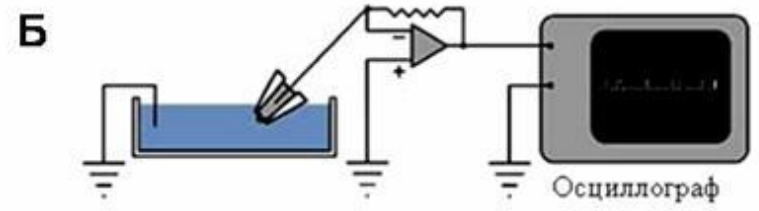
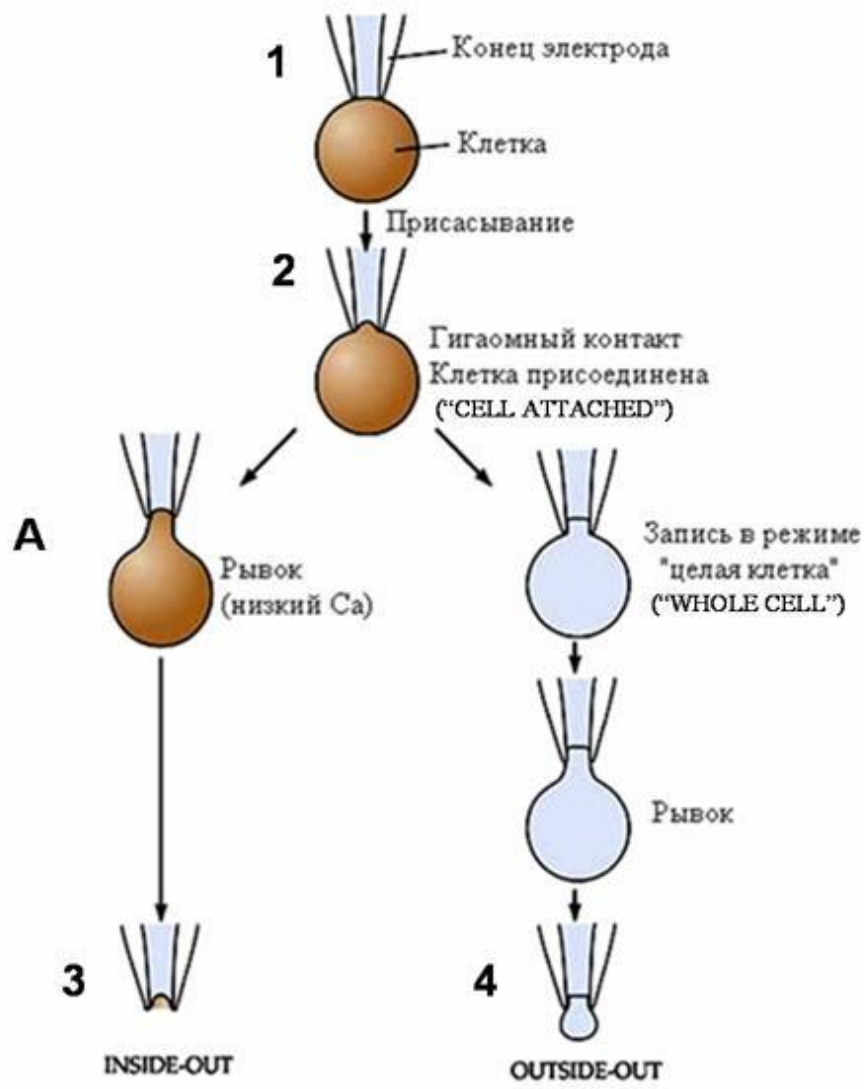
- Потенциал покоя - стационарная разность электрических потенциалов, регистрируемая между внутренней и наружной поверхностями мембраны в невозбужденном состоянии







- Потенциал покоя определяется разной концентрацией ионов по разные стороны мембраны и диффузией ионов через мембрану. Результаты расчетов приблизительно совпадают с величинами мембранных потенциалов, полученными опытным путем



$$P_K \gg P_{Na, P_K} > P_{Cl}$$

- Проанализируем уравнение Гольдмана в состояние покоя:
- В состоянии покоя проницаемость мембраны для ионов  $K^+$  значительно больше, чем для  $Na^+$ , и больше,
- чем для  $Cl^-$

$$P_K \gg P_{Na, P_K} \gg P_{Na, P_K} > P_{Cl}$$

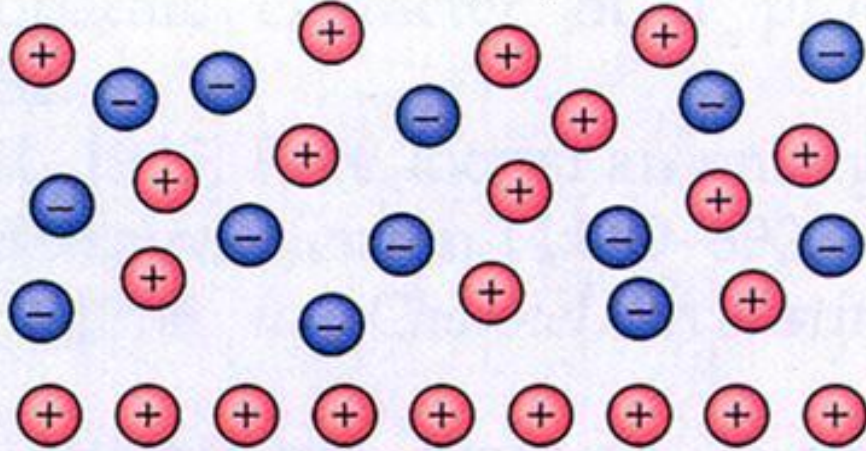
□

- Для аксона кальмара, например,
- Из уравнения Гольдмана получим уравнение Нернста для мембранного потенциала покоя:
- ;

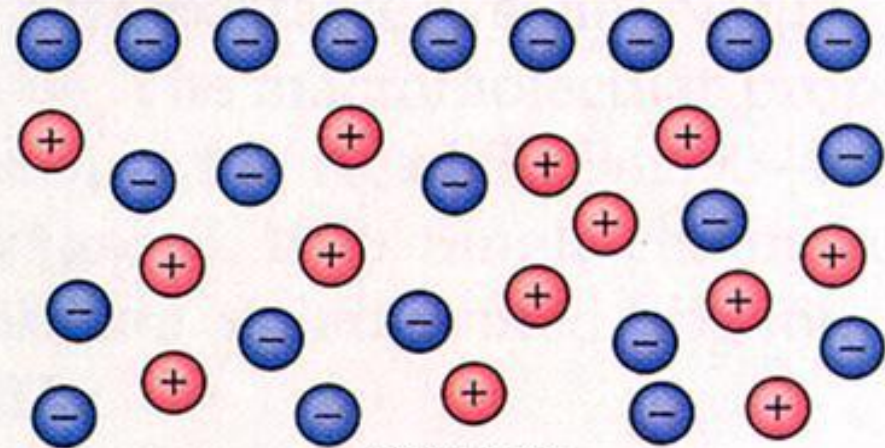
- Таким образом, уравнение Нернста - частный случай уравнения Гольдмана. При концентрации в клетке 20 мМ и аксоплазме 400 мМ рассчитанное значение равно - 95мВ. Действительно, в опытах на аксонах регистрируют потенциалы покоя около - 90мВ. Следовательно, в состоянии покоя мембранный потенциал (ПП) равен равновесному электрохимическому потенциалу  $po$ .

**А**

Внеклеточное пространство



Клеточная мембрана



Цитоплазма

**Б**

Осциллограф



1

Нервная  
клетка

2



Время →

- Итак, все клетки в состоянии покоя характеризуются определенной степенью поляризации. Клеточная мембрана всегда заряжена. ПП в различных клетках различен и достигает нескольких десятков милливольт. У аксона кальмара ПП-85мВ, у нервных и мышечных волокон ПП-90мВ.





## Нобелевская премия 1991 года в области физиологии и медицины



Эрвин Нейер



Берт Сакманн

«За открытия в области работы  
одиночных ионных каналов»

# 4. Потенциал действия

- Все клетки возбудимых тканей при действии различных раздражителей достаточной силы переходят в состояние возбуждения. Возбудимость - это способность клеток к быстрому ответу на раздражение, проявляющаяся через совокупность физических, физико-химических процессов и функциональных изменений

□ Обязательным признаком возбуждения является изменение электрического состояния клеточной мембраны. Опыт показывает, что возбужденный участок клетки становится электроотрицательным по отношению к невозбужденному, что указывает на перераспределение ионов в возбужденном участке. Оно имеет временный характер

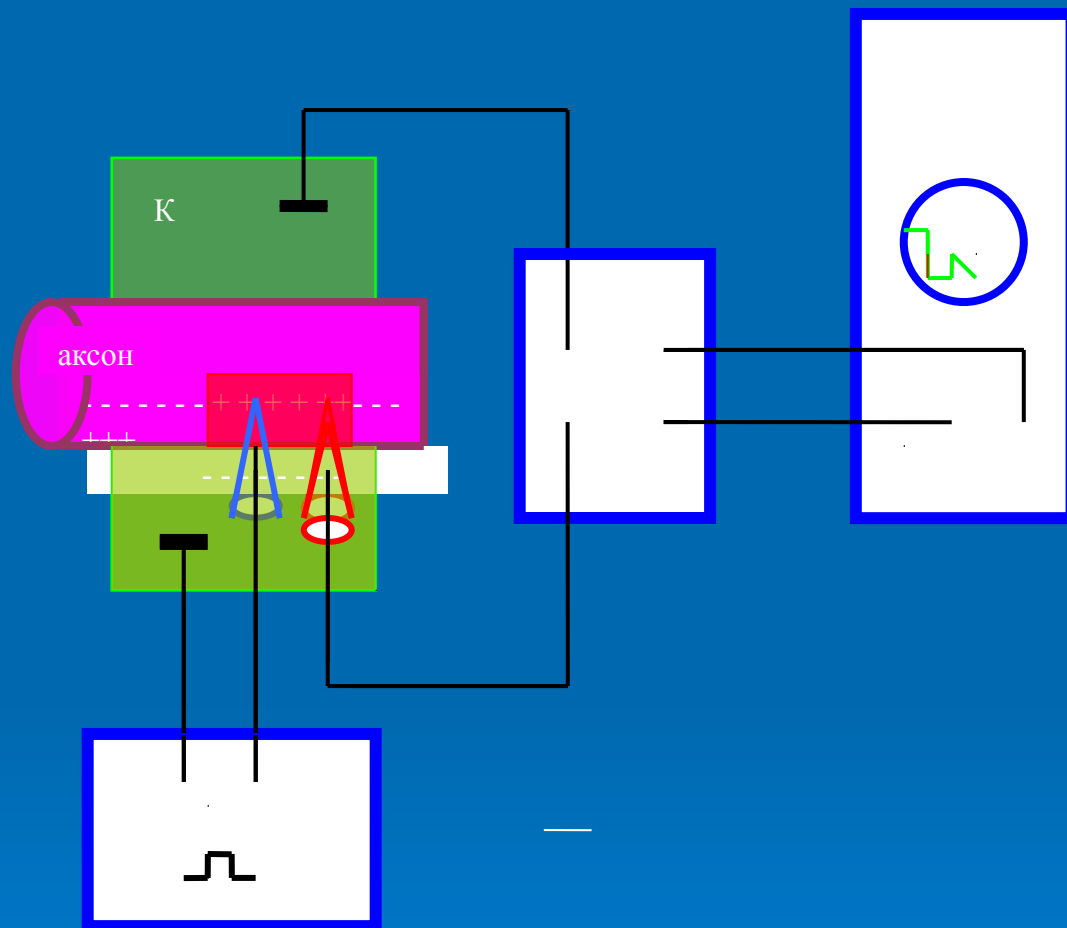
- Общее изменение разности потенциалов между клеткой и средой, происходящее при возбуждении, называется потенциалом действия



- Потенциал действия (ПД), или потенциал возбуждения нервных клеток (волокон), возникает в ответ на достаточное по силе раздражение. ПД - очень быстрый, кратковременный электрический процесс, поэтому для его регистрации необходим катодный осциллограф с широкополосным усилителем.

- Классическое исследование параметров и механизма ПД проделано на гигантском аксоне кальмара с внутриклеточным раздражением и отведением внутриклеточного потенциала. В это нервное волокно (диаметром 0,5-1 мм) вводили на всю его длину два тончайших проволочных электрода. Один из них был раздражающим: через него в волокно подавали толчки тока того или иного направления, другой регистрировал электрический потенциал.

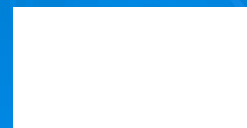
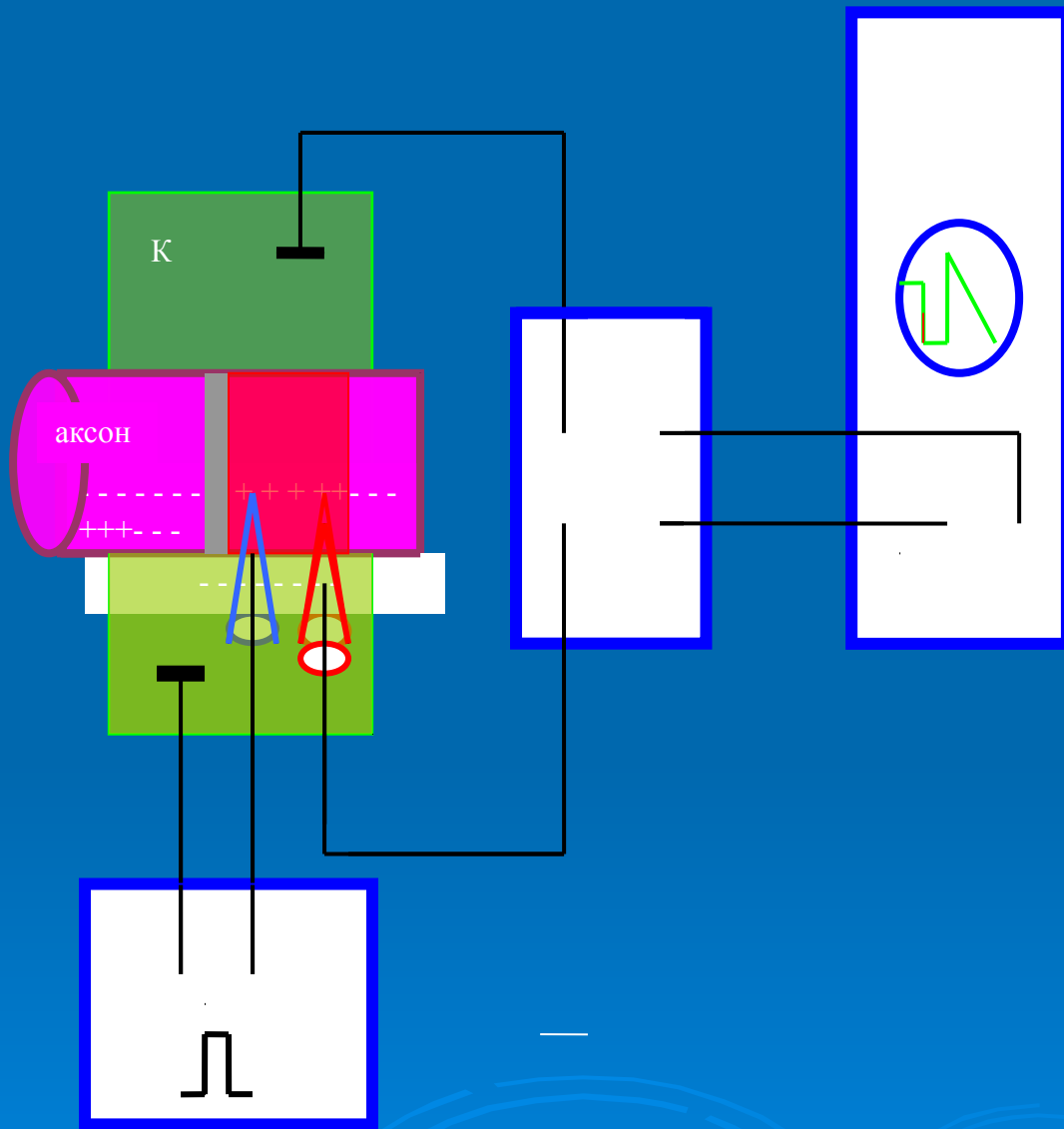
- При подаче короткого и слабого толчка выходящего тока внутриклеточный электрод регистрировал кратковременное падение МП, по форме и силе соответствующее толчку тока, но со сглаженными передним и задним фронтами, что определяется емкостью мембраны. Это так называемый локальный потенциал. Локальным он называется потому, что и в экспериментальных, и в естественных уровнях он не распространяется далеко

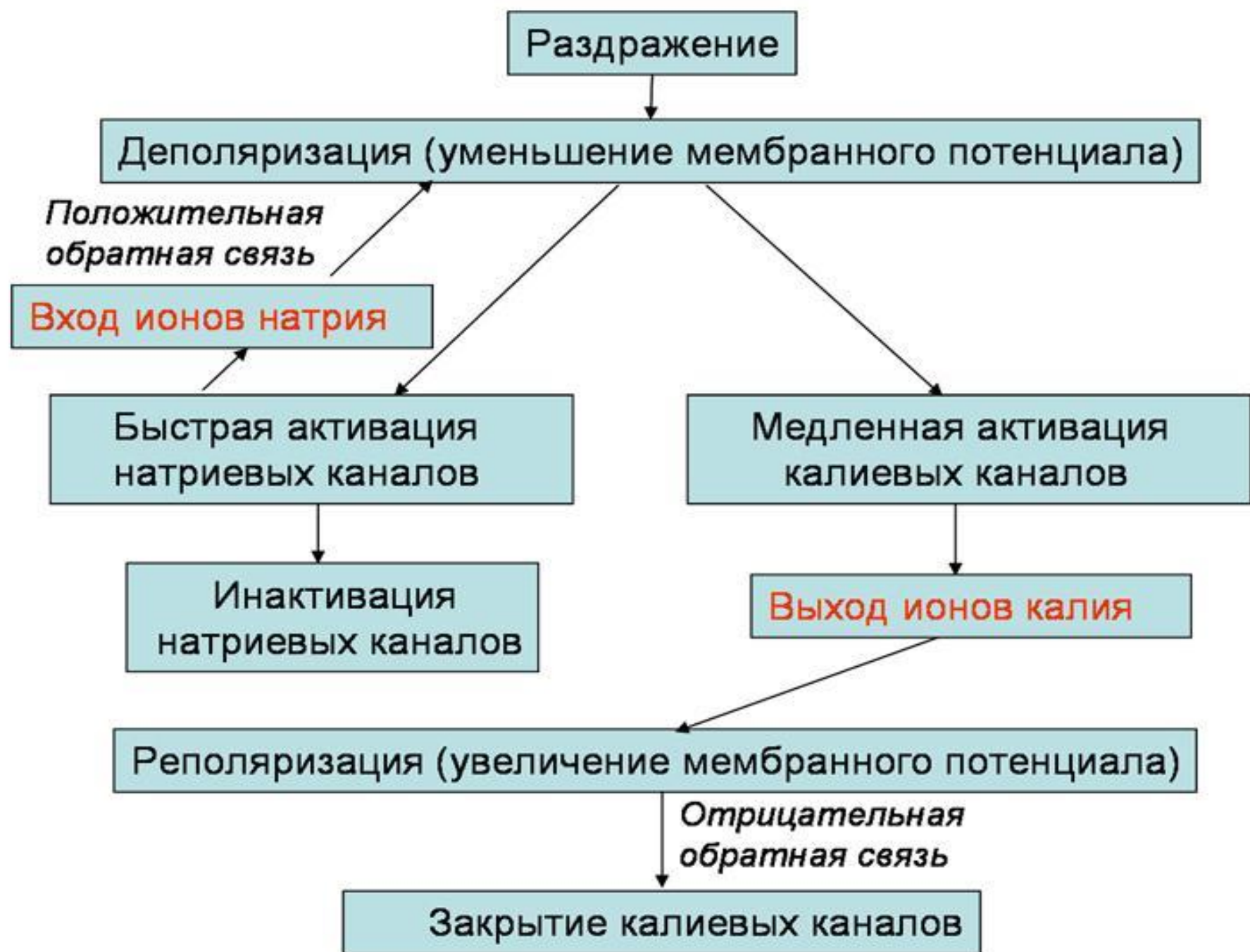




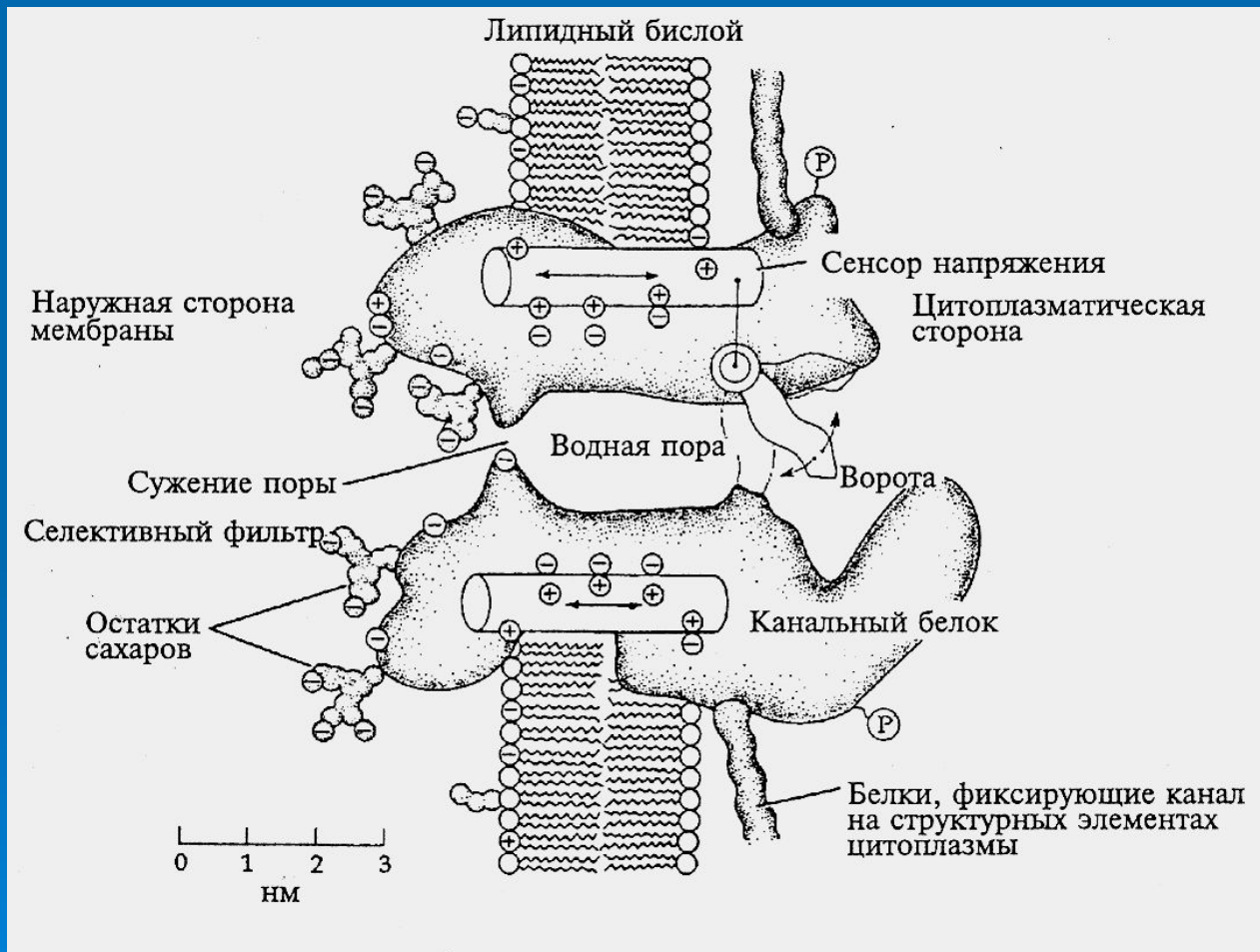
- . При усилении стимула и достижении порога раздражения, т.е. критического уровня деполяризации (КУД), возникает потенциал действия







# Перенос ионов через каналы биомембран



- В потенциале действия различают пик (спайк) и следовые потенциалы.
- Пик ПД представляет собой кратковременную инверсию (изменение знака на положительный) внутриклеточного потенциала. Он имеет очень быструю восходящую фазу и несколько более медленный спад.

- Общая длительность пика в данном объекте составляет около 3мс, амплитуда пика 120мВ, т.е. превышает МПП (90 мВ) на 30 мВ. Эту разницу называют овершутом или амплитудой потенциала инверсии.

- Вслед за пиком ПД регистрируются значительно более слабые и длительные отрицательный и далее положительный следовой потенциалы

# □ График изменения мембранного потенциала при разных воздействиях

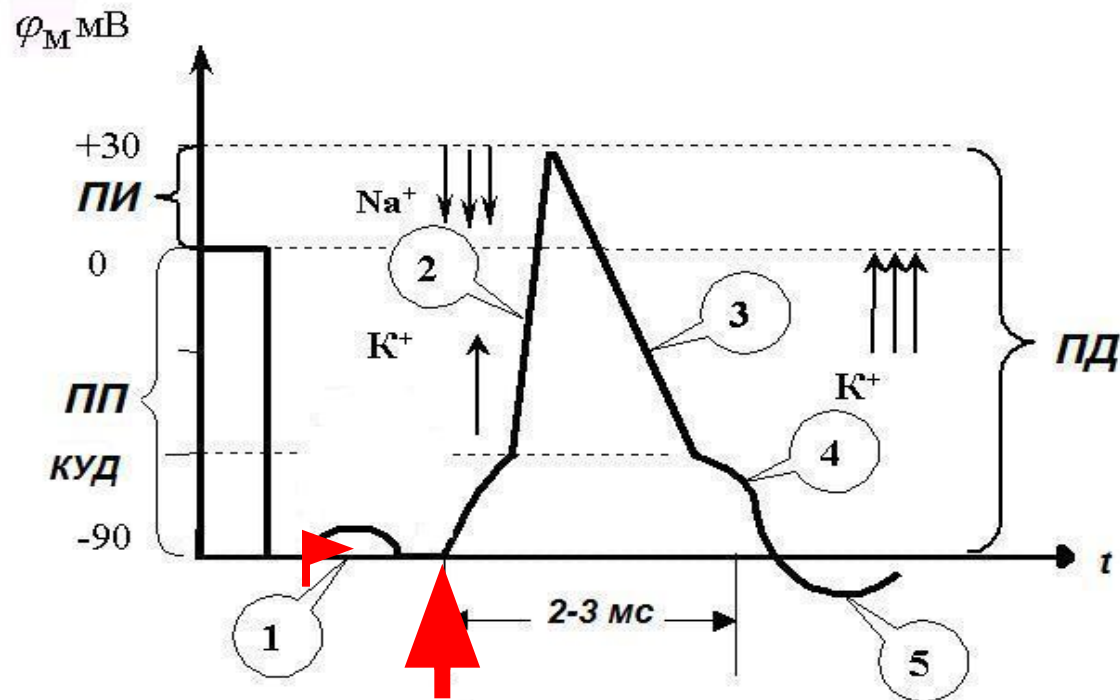


Рис.15.

1. Локальный потенциал.

2. Деполяризация.

3. Реполяризация.

4. Следовая деполяризация.

5. Следовая гиперполяризация.



## □ .График потенциала действия

□

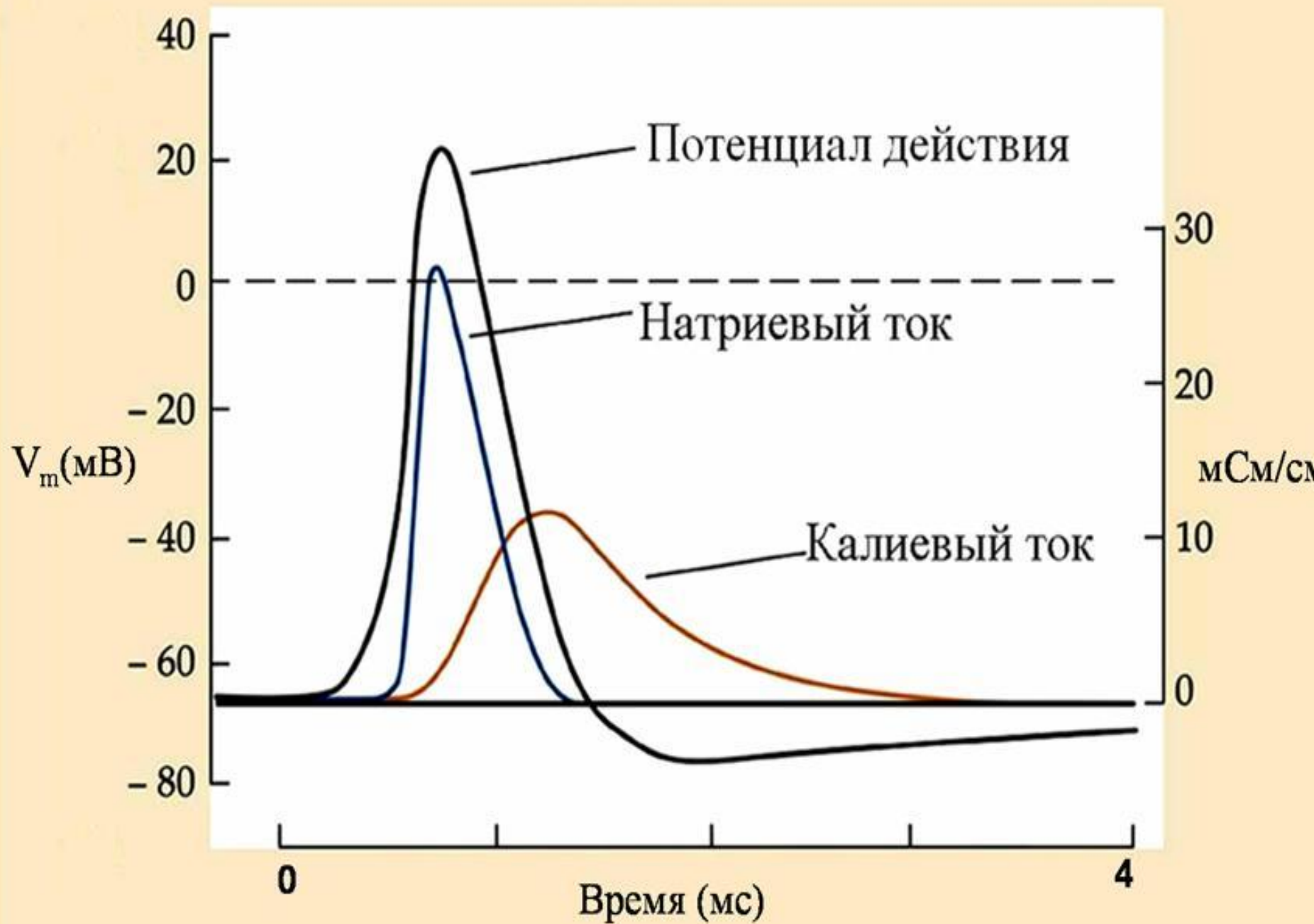
- возбуждающий импульс от генератора положительный (деполярирующий), но сдвиг мембранного потенциала аксона ниже некоторого порогового значения ( критического уровня деполяризации –КУД )-возникает локальный потенциал (1) .

□

- амплитуда положительного.деполярирующего возбуждающего импульса приводит к сдвигу мембранного потенциала по значению выше порогового уровня, в мембране развивается генерация потенциала действия .

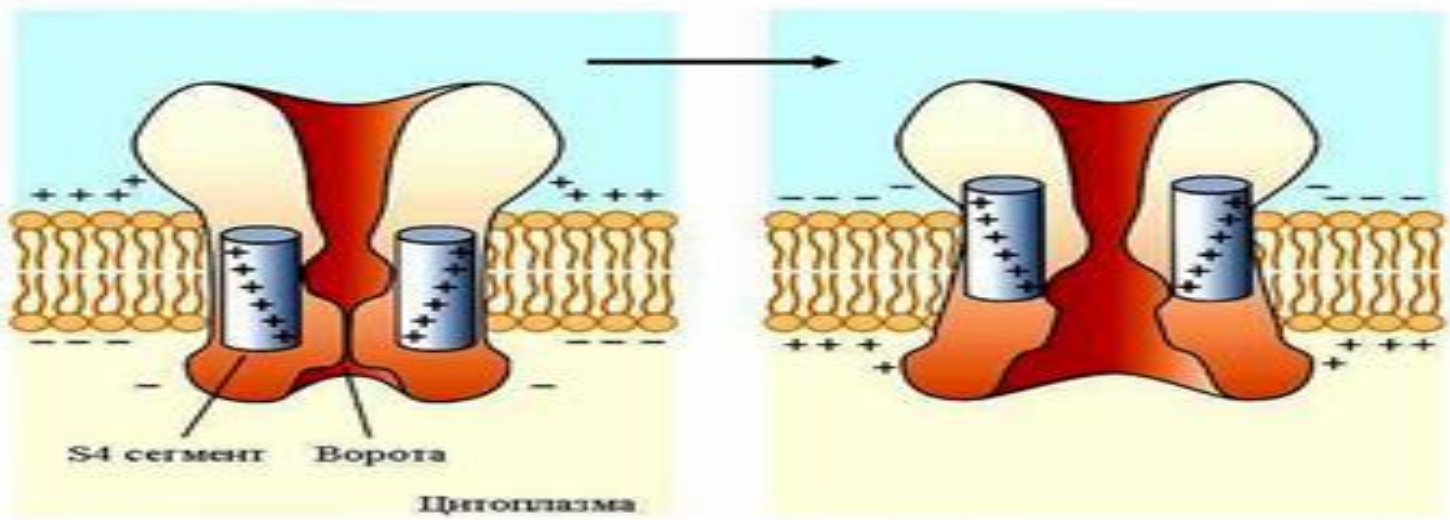
□

□ **5.** – при следовой гиперполяризации в течение 1-2 мс в мембране наблюдаются остаточные явления, во время которых мембрана остается рефракторной (невозбудимой).

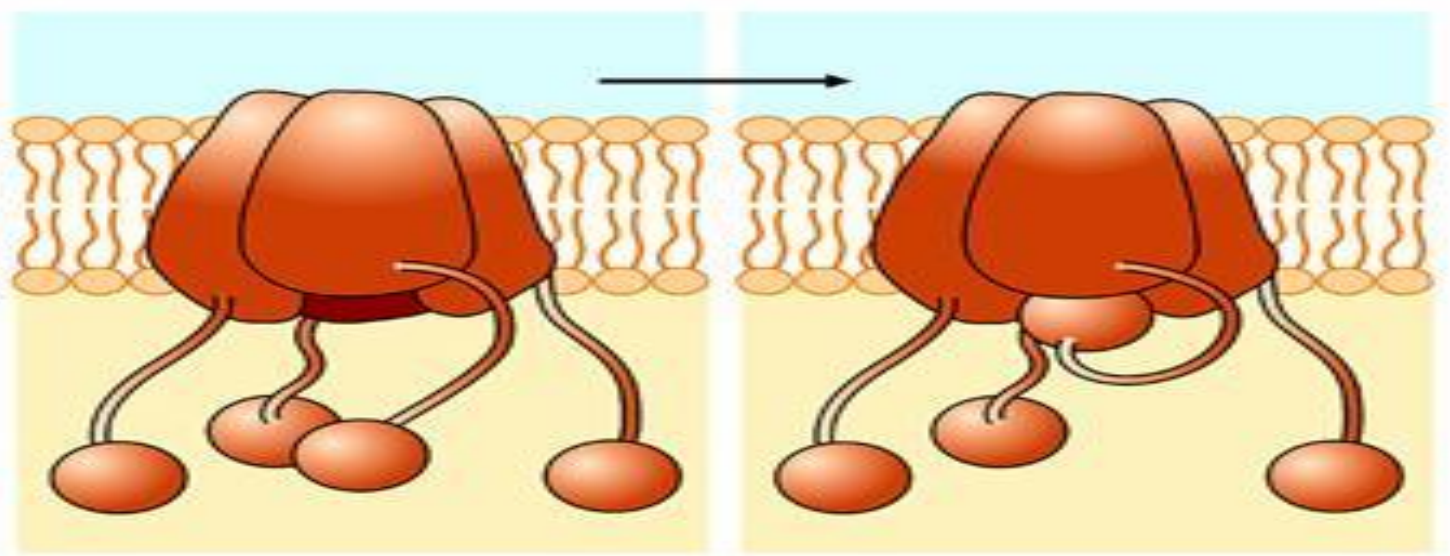


- Потенциал действия имеет стандартные амплитуду и временные параметры, не зависящие от силы стимула, вызвавшего данный ПД (правило "все или ничего").
- Потенциал действия - это электрический феномен, возникающий на плазматической мембране. Практически нормальный ПД возникает и в перфузируемом гигантском аксоне, лишенном аксоплазмы, при электрической стимуляции его мембраны.

**А**



**Б**



- Причиной развития ПД является вызываемое критической деполяризацией мембраны открытие ее натриевых и калиевых каналов. Каналы, открываемые электрическим стимулом, называют потенциалзависимыми.

- Открытие потенциалзависимых каналов приводит к пассивному движению соответствующих ионов по их электрохимическим градиентам.
- Вход ионов в клетку обеспечивает восходящую фазу пика ПД, т.е. деполяризацию и инверсию потенциала на мембране, а несколько запаздывающий выход ионов участвует в создании нисходящей фазы пика - реполяризации.

- При развитии пика ПД отношение становится (в покое оно составляет ). Связь развития пика ПД с током доказывається прямой зависимостью амплитуды ПД от электрохимического градиента на мембране и достоверным переходом меченого изотопа из среды в клетку при его возбуждении, причем в количестве, пропорциональном числу ПД. Связь нисходящей фазы ПД с током доказывається зависимостью хода этой фазы от электрохимического градиента на мембране.

- Рассмотрим локальный подпороговый ответ (ЛО) в нервной клетке. Этот ответ обладает в основном тем же механизмом, что и ПД. Его восходящая фаза определяется входящим током  $I_{Na}$ , а нисходящая - выходящим током .
- Амплитуда ЛО пропорциональна силе раздражителя, а не стандартна, как у ПД, т.е. он не подчиняется правилу "все или ничего".



- Рассчитаем равновесный электрохимический потенциал для натрия при возбуждении:
- $P_{Na^+} : P_{K^+} : P_{Cl^-} = 30 : 1 : 0,45$
- т.е. по сравнению с невозбужденным состоянием при возбуждении коэффициент проницаемости возрастает в 750 раз, т.к. , уравнение Гольдмана преобразуется в уравнение Нернста, и по нему можно рассчитать равновесный потенциал по натрию. Расчет по формуле Нернста.

- В опытах было доказано, что этот равновесный потенциал по Na совпадает с амплитудным значением потенциала инверсии. ПИ всегда положителен, но меньше по абсолютной величине, чем потенциал
- покоя . ПД равен сумме ПП и ПИ

# Характерные свойства потенциала действия:

- Наличие порогового значения деполяризующего потенциала.
- Закон "все или ничего", т.е., если деполяризующий потенциал больше порогового, развивается потенциал действия, амплитуда которого не зависит от амплитуды возбуждающего импульса и нет потенциала действия, если амплитуда деполяризующего потенциала меньше пороговой

- Наличие периода рефрактерности, невозбудимости мембраны во время развития потенциала действия и остаточных явлений после снятия возбуждения.
- Резкое уменьшение сопротивления мембраны в момент возбуждения (у аксона кальмара от 0,1 в покое до 0,0025 при возбуждении).

- Итак, генерация потенциала действия в возбужденных мембранах возникает под влиянием различных факторов и сопровождается в первую очередь повышением проводимости клеточной мембраны для ионов натрия, входом их внутрь клетки, что приводит к деполяризации клеточной мембраны и появлению локального ответа.

- . Этот процесс может достигнуть критического уровня деполяризации, после чего проводимость мембраны для натрия увеличивается до максимума, мембранный потенциал при этом приближается к натриевому равновесному потенциалу. Приблизительно через десять миллисекунд происходит инактивация натриевых каналов.

- Увеличивается активация калиевых каналов, что приводит к увеличению выходящего калиевого тока, который в свою очередь вызывает реполяризацию и в дальнейшем восстановление потенциала покоя.

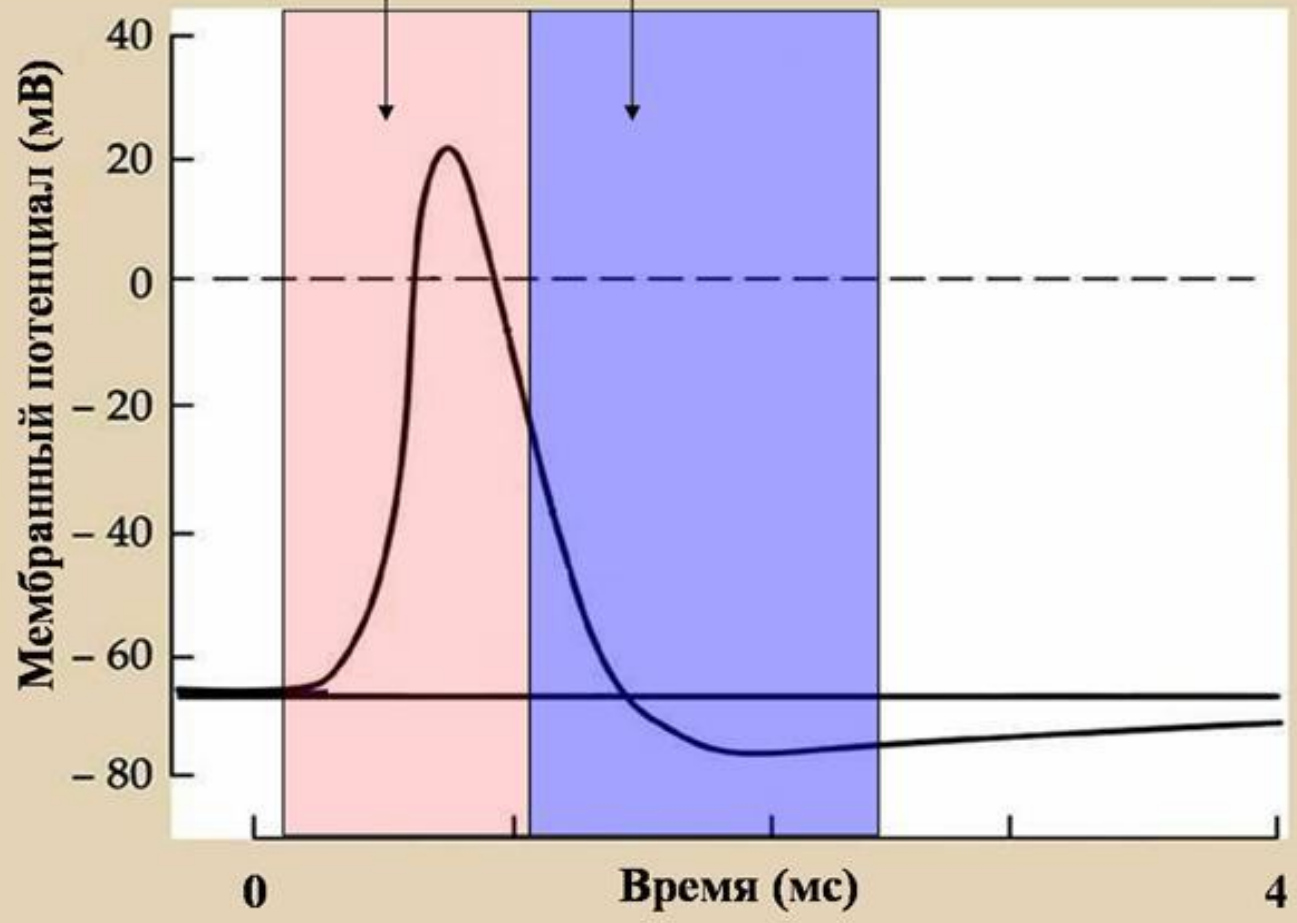


- Физиологическая роль ПД в потенциалзависимых клетках не ограничивается только возбудимостью клеточной мембраны и проведением нервного импульса. Возникновение ПД сопровождается целый комплекс информационных процессов, которые развиваются в ответ на стимуляцию на фоне ПД. Среди этих процессов следует назвать такие как: 1) изменение обмена веществ, 2) саморегуляция температуры и электрического импеданса, а так же других важных физиологических констант организма.





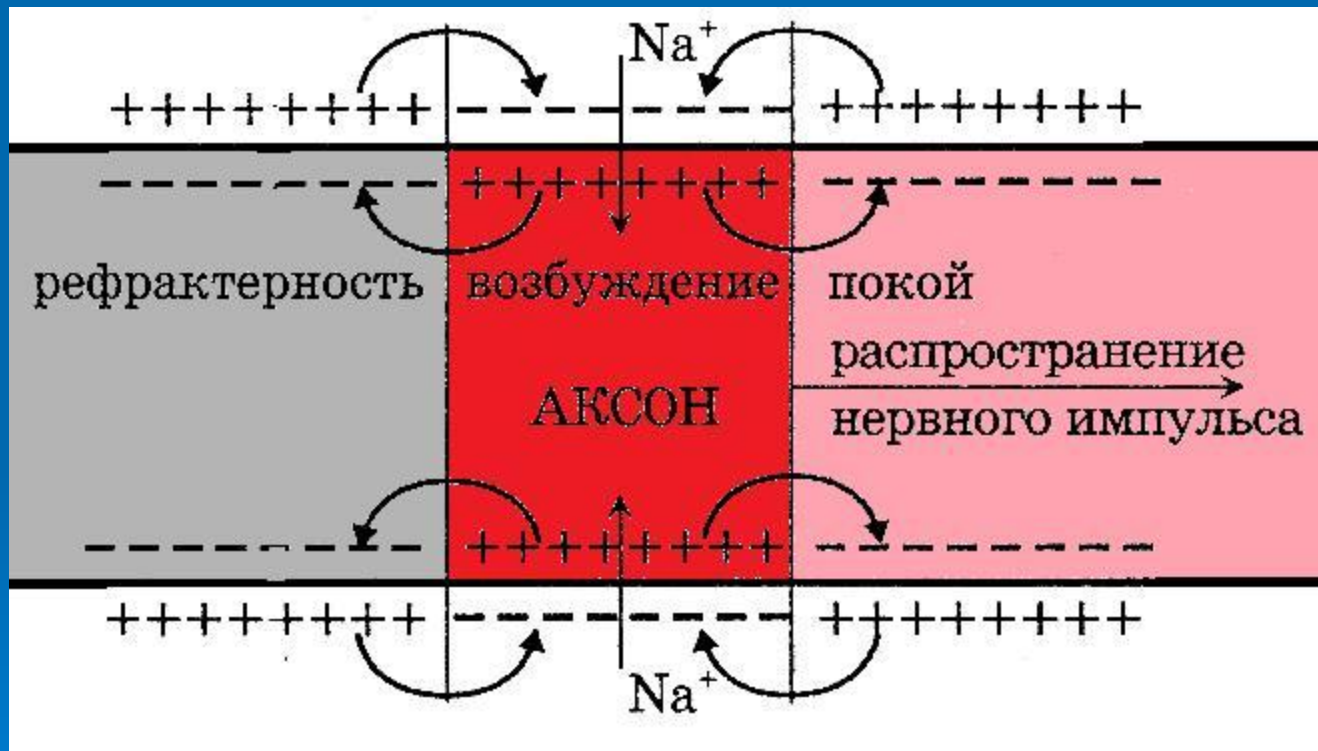
Абсолютная рефрактерность      Относительная рефрактерность



# 5. Распространение нервного импульса вдоль возбудимого волокна

- Если в каком-нибудь участке возбудимой мембраны сформировался потенциал действия, мембрана деполяризована, возбуждение распространяется на другие участки мембраны. Рассмотрим распространение возбуждения на примере передачи нервного импульса по аксону

# Локальные токи при распространении нервного импульса по нервному волокну



□ Положим, что один участок аксона находится в возбужденном состоянии, а соседний участок находится в покое. На границе таких зон возникают перепады мембранных потенциалов: плюс на возбужденном и минус на покоящемся участках. Надо учесть, что и аксоплазма и внеклеточная жидкость являются растворами электролитов, а следовательно, проводящими средами.

- Поэтому и в аксоплазме, и в окружающем растворе возникают локальные токи: между участками поверхности мембраны с большим потенциалом (положительно заряженными) и участками с меньшим потенциалом (отрицательно заряженными).

- Локальные токи образуются и внутри аксона, и на наружной его поверхности. Локальные электрические токи приводят к повышению потенциала внутренней поверхности невозбужденного участка мембраны и к понижению наружного потенциала невозбужденного участка мембраны, оказавшегося по соседству с возбужденной зоной

- Таким образом, в областях, близких к возбужденному участку, отрицательный потенциал покоя повышается и становится выше порогового значения. Под действием изменения мембранного потенциала открываются натриевые каналы и дальнейшее повышение происходит уже за счет потока ионов натрия через мембрану

- Происходит деполяризация мембраны, развивается потенциал действия. Затем возбуждение передается дальше на покоящиеся участки мембраны



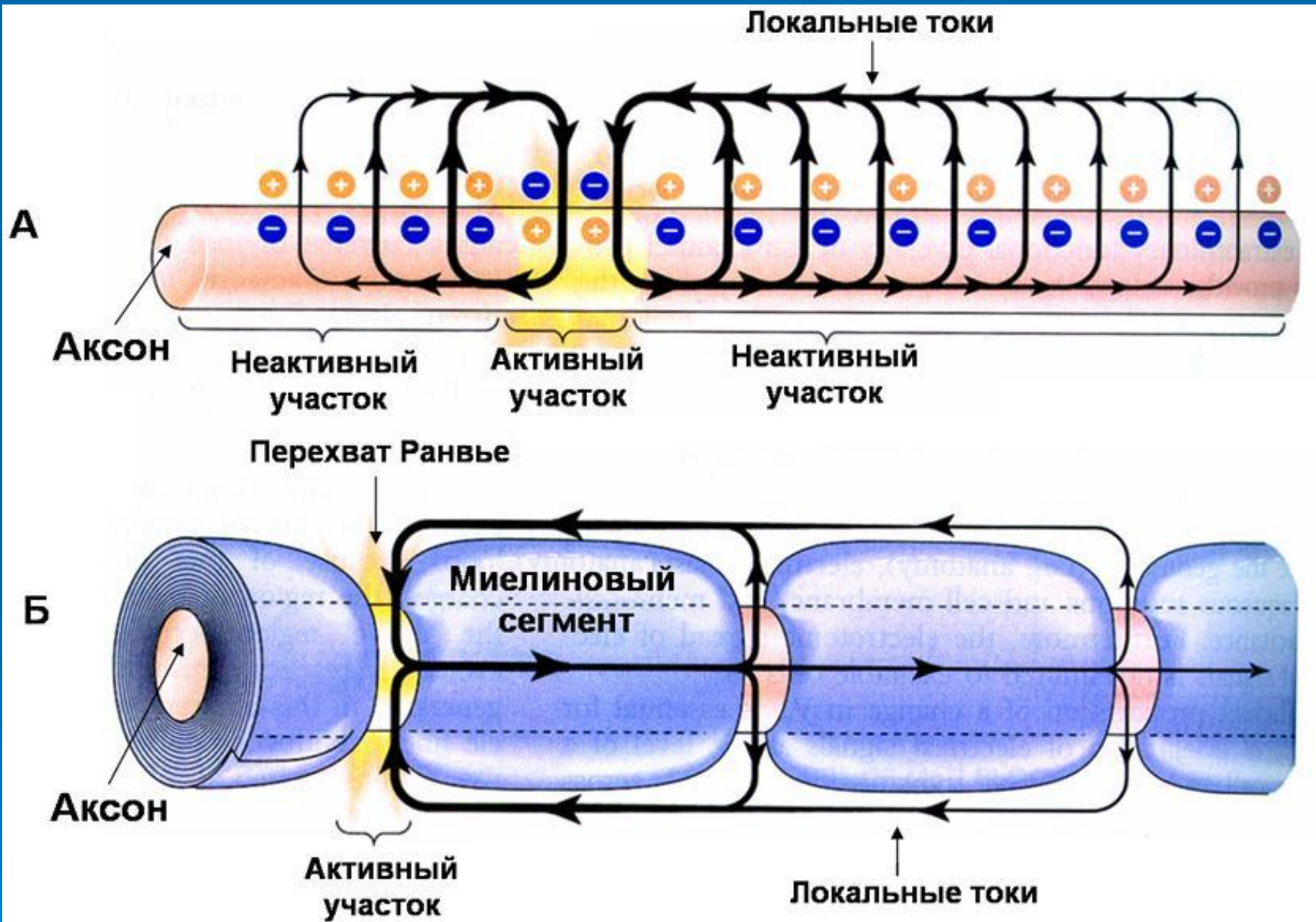


- Может возникнуть вопрос, почему возбуждение распространяется по аксону не в обе стороны от зоны, где возник нервный импульс, ведь локальные токи текут в обе стороны от возбужденного участка. Дело в том, что возбуждение может распространяться только в область мембраны, находящуюся в состоянии покоя, то есть в одну сторону от возбужденного участка аксона. В другую сторону нервный импульс не будет распространяться, так как области, через которые прошло возбуждение, некоторое время остаются невозбудимыми – рефракторными.

- Эволюция животного мира привела к появлению нервных волокон, покрытых миелиновой оболочкой, которая представляет собой многомембранную систему. Миелин является изолятором, поэтому генерация ПД сосредоточена там, где миелиновая оболочка отсутствует, т.е. в перехватах Ранвье.
- Аксоны позвоночных снабжены миелиновой оболочкой, которая увеличивает сопротивление мембраны и ее толщину

- Возбуждение по миелинизированному волокну распространяется сальтаторно (скачкообразно) от одного перехвата Ранвье (участка, свободного от миелиновой оболочки) до другого.







## Нобелевская премия 1963 года в области физиологии и медицины



Алан Ходжкин



Эндрю Хаксли



Сэр Джон Экклс

«За открытия ионных механизмов возбуждения и торможения нервных клеток»