

НОРМАЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

ЛЕКЦИЯ 3

- Потенциал покоя
 - история вопроса
 - современные представления

muk.physiolog@mail.ru

Гайдуков Александр Евгеньевич

МУК МГУ 2013

ВВЕДЕНИЕ

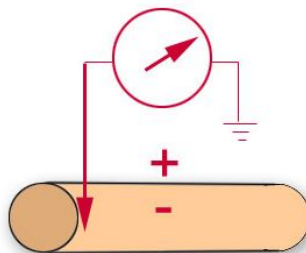
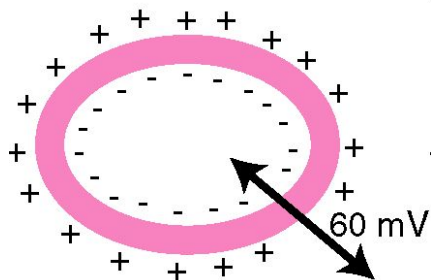
Электрические явления -

электрические поля и электрические (ионные токи), текущие через мембрану клетки,

свойственны всем живым клеткам (!!!)

Поверхностная мембрана всех живых клеток обладает фундаментальным свойством - способна разделять и накапливать электрические заряды

(-) отрицательные - внутри, положительные (+) - снаружи.



Наличие постоянного перепада электрического поля между внутренней и наружной средой клетки носит название **потенциала покоя** (ПП₀) .

ПП₀ - основополагающее свойство л ю б о й клетки, как возбудимой, так и невозбудимой

Отличия между электровозбудимыми и невозбудимыми клетками

- **Возбудимыми** называются клетки, у которых ионная проницаемость поверхностной мембраны изменяется при изменениях электрического потенциала на мембране
- **Возбудимыми** называются клетки, обладающие способностью в ответ на деполяризующее действие электрического тока генерировать особый тип потенциала, т.н. **потенциал действия (ПД)**

Возбудимые клетки:

- Нейроны
- Мышечные клетки (*все типы*)
- Нейросекреторные клетки (*гипофиз, надпочечники*)
- Рецепторные клетки (*сетчатка, волосковые клетки, механочувствительные клетки*)

Невозбудимые клетки:

- Клетки печени
- Клетки почек
- Глиальные клетки
- Клетки крови и др.

Потенциал действия (ПД) возникает на основе **предсуществующего** у клетки **ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ**

1-й этап научного исследования биопотенциалов

- **Луиджи Гальвани** (1791) «Трактат о силах электричества при мышечном движении»
(*De Viribus Electricitatis in Motu Musculari Commentarius*)
- **Карло Маттеучи** (опыты в 1830-1865)

Луиджи Гальвани (XVIII век)

В **1780** году Гальвани обнаружил, что если к туловищу лягушки приложить железную пластинку, а к лапке - медную, и затем пластинки соединить, то мышцы лапки будут сокращаться.

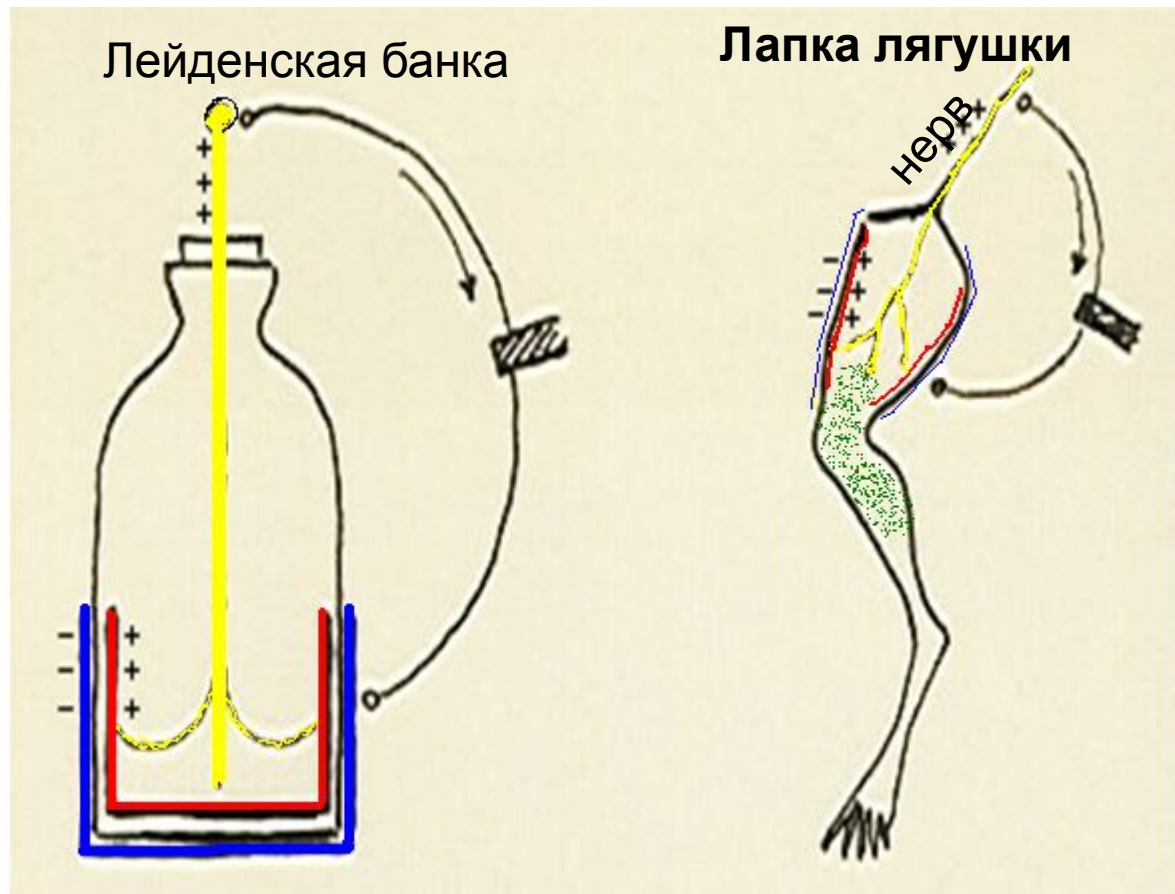
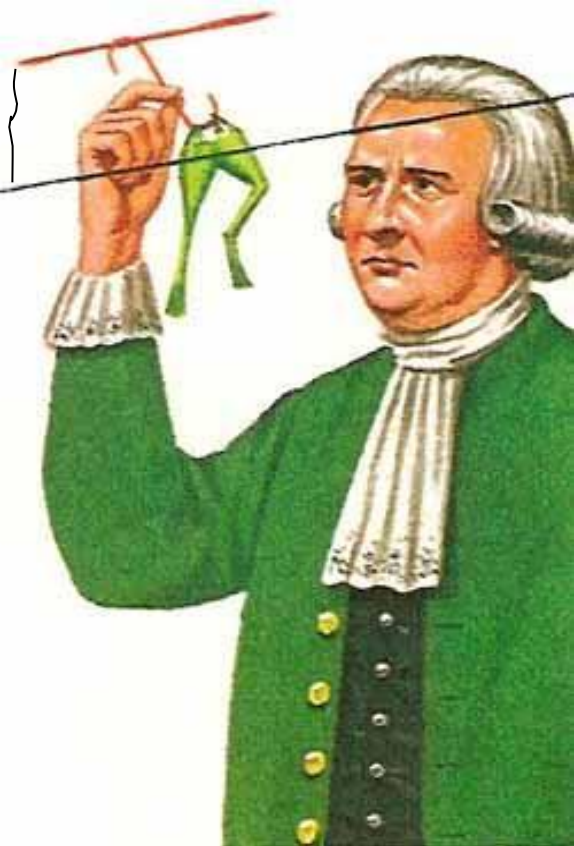
Гальвани трактовал этот факт как доказательство наличия "**животного электричества**", предположив, что мышца заряжена отрицательно по сравнению с нервом, и в цепи **нерв-металл-мышца-нерв** возникает **электрический ток**.



Карло Маттеучи продолжил проверку гипотезу о существовании «животного электричества».

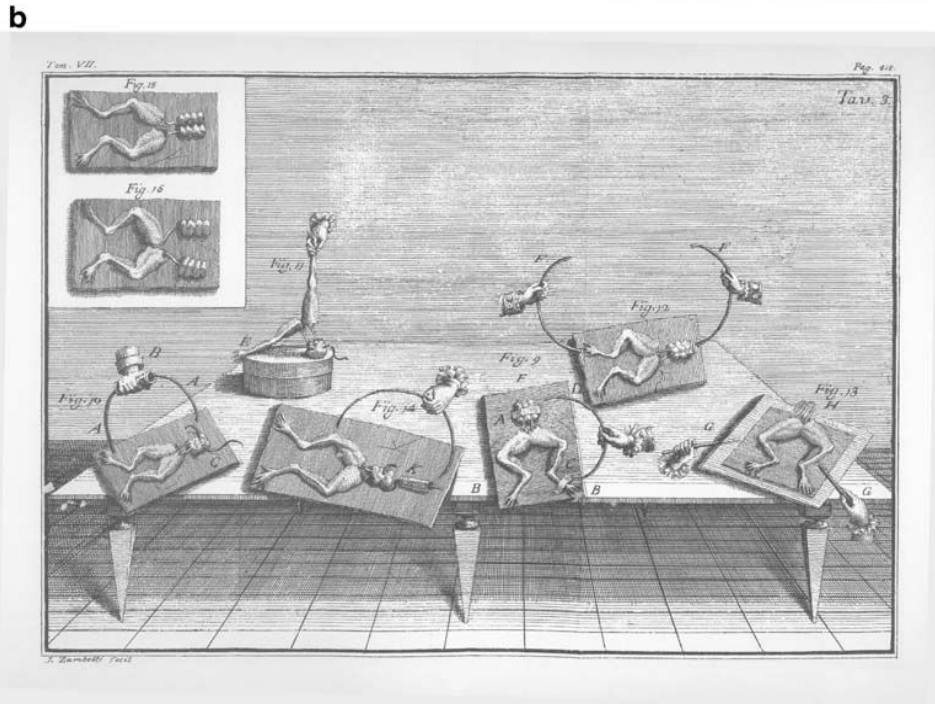
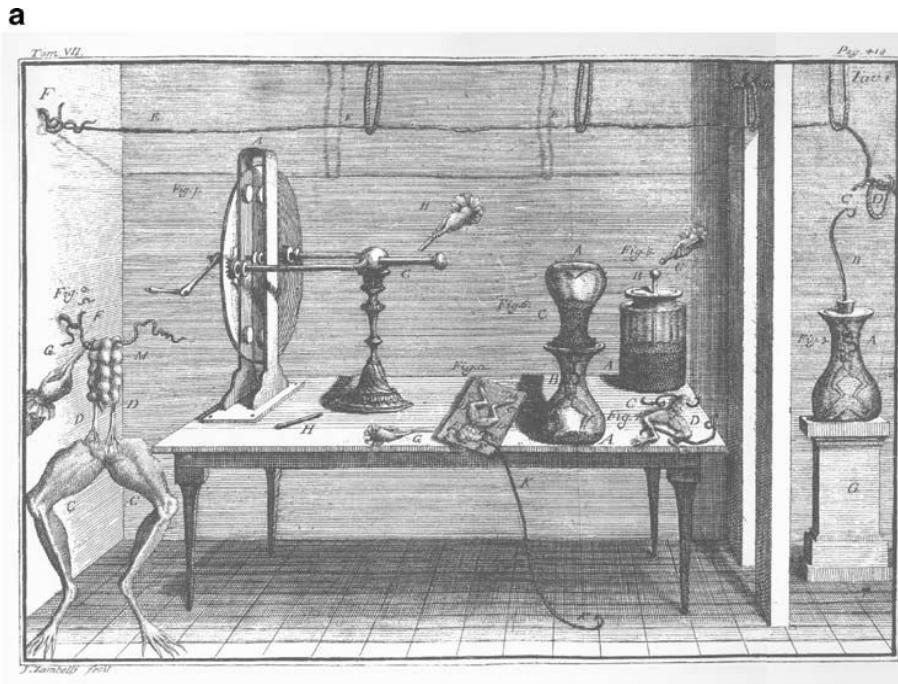
Лягушачьи лапки – это не только еда

1791 год,
Болонья

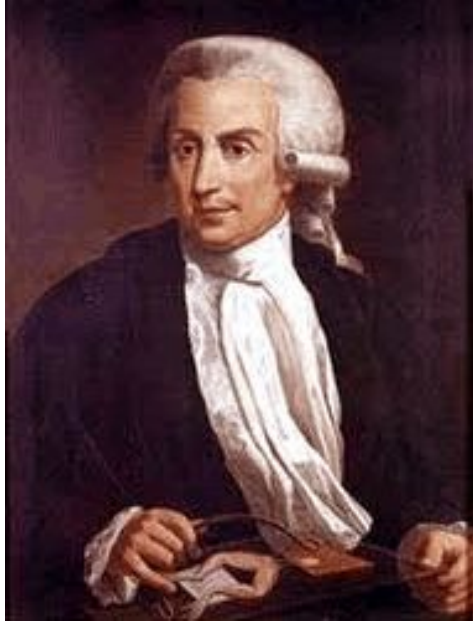


Л. Гальвани:

«Лапка лягушки – это живая Лейденская банка,
электрический конденсатор животного
электричества!!»



«De Viribus Electricitatis in Motu Musculari Commentarius» 1791

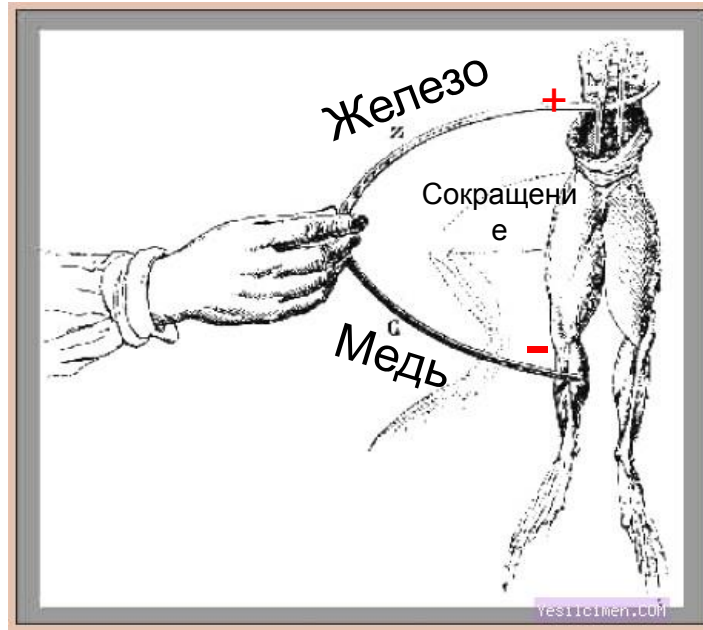


Луиджи Гальвани

«Мышца – накопитель электричества, а нерва его проводник!!»

Спор между Л.Гальвани и А.Вольта

Конец 18-го века



Почему же сокращается лапка ?????



Алессандро Вольта

В лапке нет никакого электричества!
Электричество – в самом пинцете!

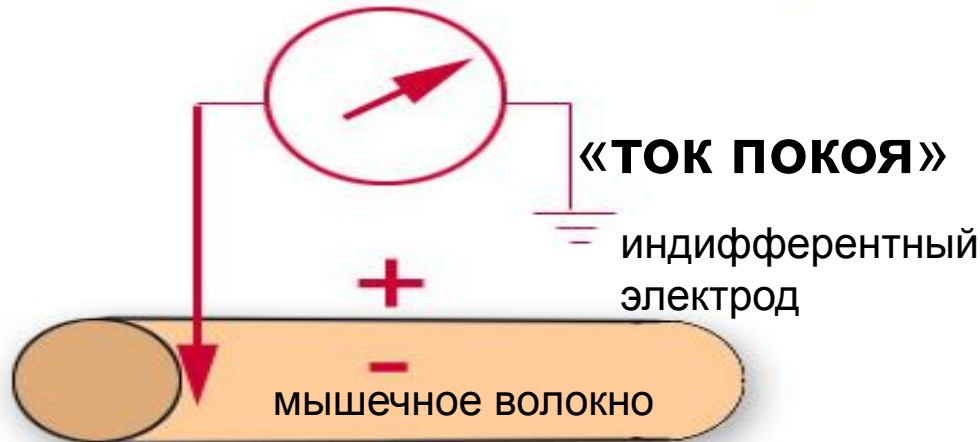
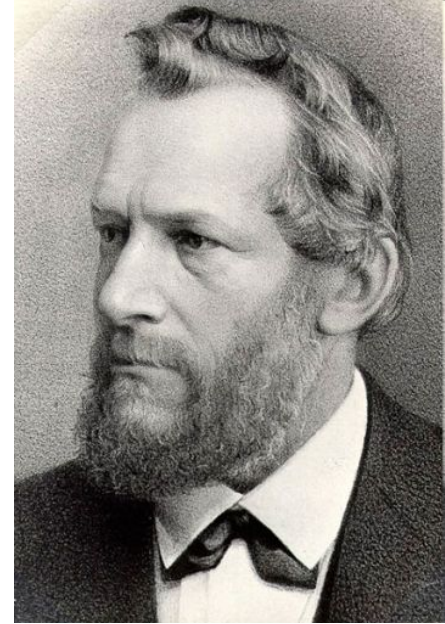
Из-за разряда электричества которое накоплено в мышце!

Лапка раздражается **внешним электричеством** существующим в паре разнородных металлов !!

Опыты по измерению «тока покоя»

Эмиль Дюбуа-Реймон

Регистрация электрического тока струнным гальванометром (1860-1880)



Между внутренней и наружной поверхностью клеток существует **перепад напряжения**. При введении одного электрода внутрь клетки наблюдается ток - ток покоя!

**Да, клетка (ее мембрана) - электрический конденсатор, но в чем причина ?
И что происходит при возбуждении клетки ?**

Вопрос:

- Как объяснить наличие пространственного разделения электрических зарядов - сосредоточения положительных зарядов снаружи клеток, а отрицательных – внутри, т.е. **наличие электрического потенциала** между наружной и внутренней поверхностью клеток?

Диффузионный потенциал

Диффузия заряженных частиц – противо-ионов происходит с разной скоростью, в соответствии с их подвижностью в растворе электролита

Вальтер Нернст

ввел понятие

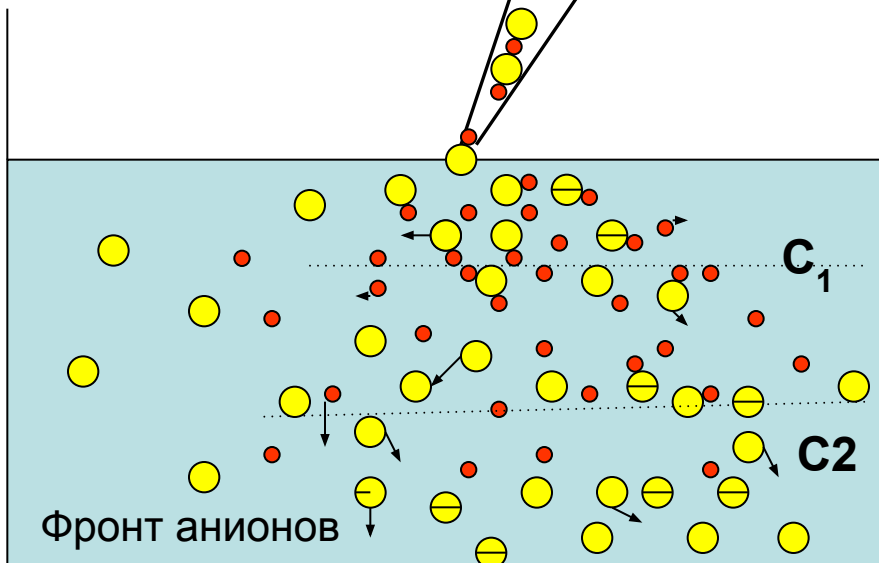
«диффузионный потенциал».

Возникает в растворе электролита при диффузии анионов и катионов соли



Соль
A- K+

- ● Анионы
- + ● Катионы



$$V_{\text{диф}} = \frac{RT}{F} \frac{u_1 - u_2}{u_1 + u_2} \ln \frac{[C_i^+]_1}{[C_i^+]_2}$$

U - подвижность иона

см/сек : В/см = см² / В·сек

Вильгельм ОСТВАЛЬД

Вводит понятие «**электролитическая ячейка**» для сосуда, разделенного **полупроницаемой мембраной**

В соседние отсеки (ячейки) 1 и 2 налиты растворы электролита K^+A^- разной концентрации – C_1 и C_2

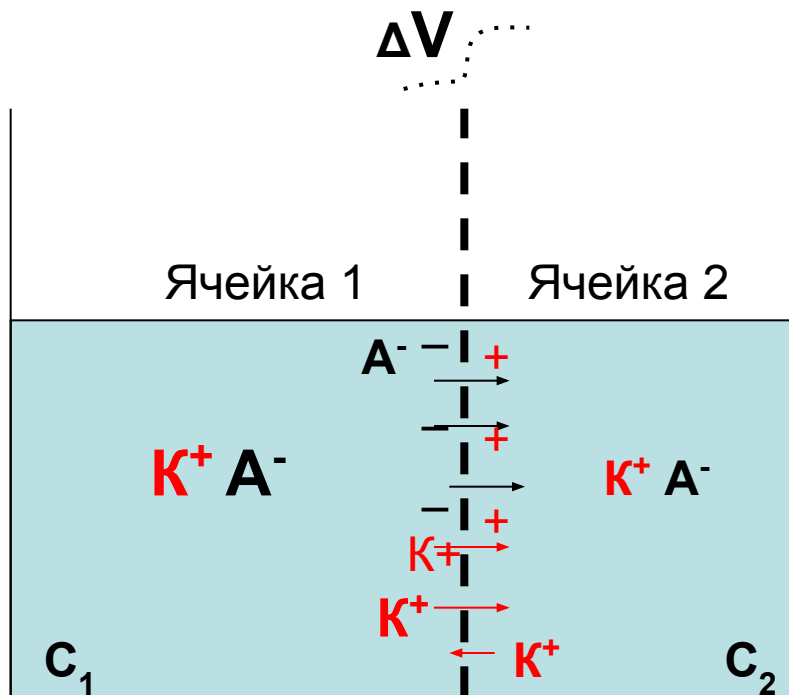
Ячейки отделены друг от друга **ПОЛУПРОНИЦАЕМОЙ** **МЕМБРАНОЙ**



P – проницаемость иона через мембрану, **см/сек**

$$P_K > 0$$

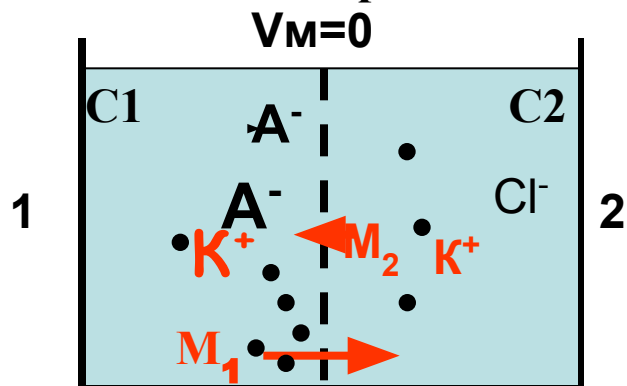
$$P_A = 0$$



Концентрации катиона K^+ между ячейками 1 и 2 **не выравняются!** т.к. на мембране возникает **трансмембранный потенциал!**,

- разновидность диффузионного потенциала, вычисляемого по формуле Нернста, когда «подвижность» одного из противо-ионов равна нулю!

Электролитическая ячейка

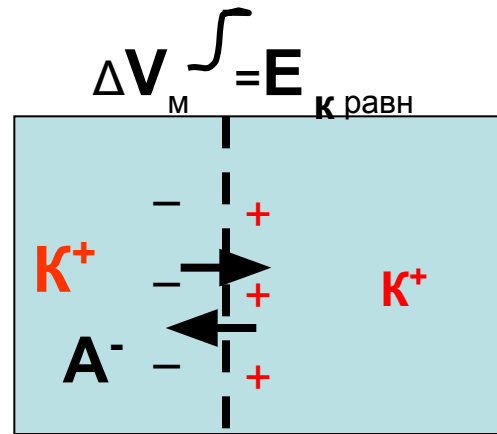


$$M_1 = P \cdot C_1; \quad M_2 = P \cdot C_2$$

поток слева направо поток справа налево

В ПЕРВЫЙ МОМЕНТ

$$M_1 \neq M_2$$



$$M = M; \quad P \cdot C_1 \cdot e^{-V/KT} = P \cdot C_2$$

Доля ионов, способных преодолеть энергетический барьер из-за потенциала на мембране

ПРИ УСТАНОВИВШЕМСЯ ПОТЕНЦИАЛЕ

V_m

ПОТОКИ ИОНОВ КАЛИЯ ВЫРАВНЕННЫ

$$M_1 = M_2$$

Величина потенциала рассчитывается по формуле Нернста

$$V_m = KT \ln \frac{C_1}{C_2} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_1}{[K^+]_2}$$

... прологарифмировав, получаем

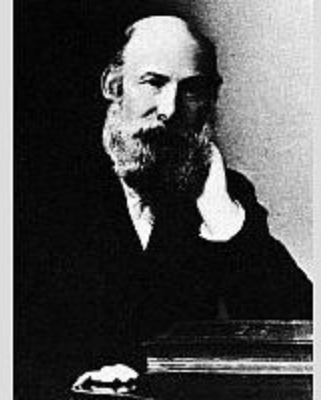
Конец XIX – Начало XX века

опыты по определению

- содержания калия в клетке,
- движению воды из или внутрь клетки

Концентрация ионов внутри клетки и в наружной среде

| Объект | ИОН | Концентрация, мМ | |
|------------------------------|-----------------------|------------------|-------------------|
| | | внутри клетки | снаружи клетки |
| Гигантский аксон кальмара | K⁺ | 369 | 13 |
| | Na⁺ | 44 | 460 |
| | Cl⁻ | 36 | 540 |
| Скелетная мышца лягушки | K⁺ | 140 | 2,5 |
| | Na⁺ | 15 | 110 |
| | Cl⁻ | 1,2 | 77 |
| Мотонейрон кошки | K⁺ | 150 | 5,5 |
| | Na⁺ | 15 | 150 |
| | Cl⁻ | 9 | 125 |



Юлиус Бернштейн – 1902-1912 гг., Берлин

- на основании данных физ.химии (работы Нернста, Оствальда)

- используя данные о высокой концентрации K^+ в клетке

- используя данные о свободном движении воды через мембрану и возможном существовании электролитов в клетке

формулирует «**Мембранную теорию**» происхождения «потенциала покоя»

1. Система – “**Клетка – Наружная среда**” может быть уподоблена электролитической ячейке Оствальда, разделенной полупроницаемой мембраной

2. В клетке высока концентрация ионов калия K^+ (140-150 ммоль) и A^- - органических анионов. В наружной среде концентрация K^+ мала – 4-5 ммоль .

3. Ионы калия проникают через мембрану, а их противоионы - органические анионы (A^-) – не проникают.

4. В таком случае на мембране устанавливается потенциал, выравнивающий потоки ионов калия.

$ПП_0 = E_{K_{равн}}$ - равновесный потенциал для потоков ионов калия.

Юлиус Бернштейн



Людвиг Германн

Альтерационная теория

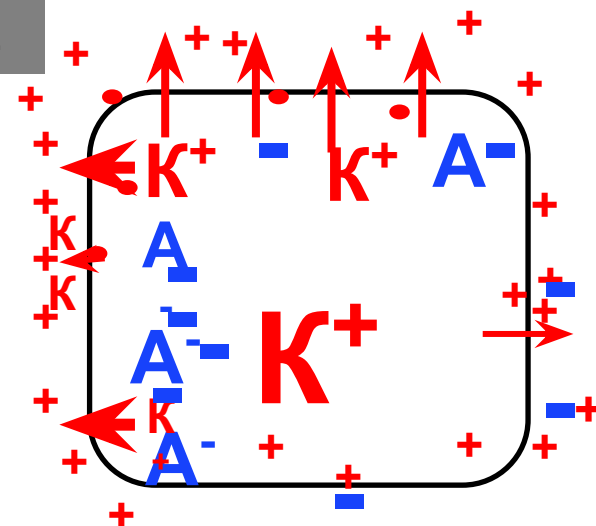
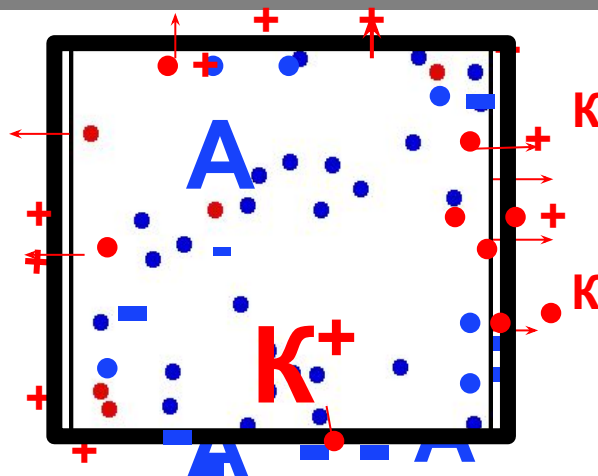
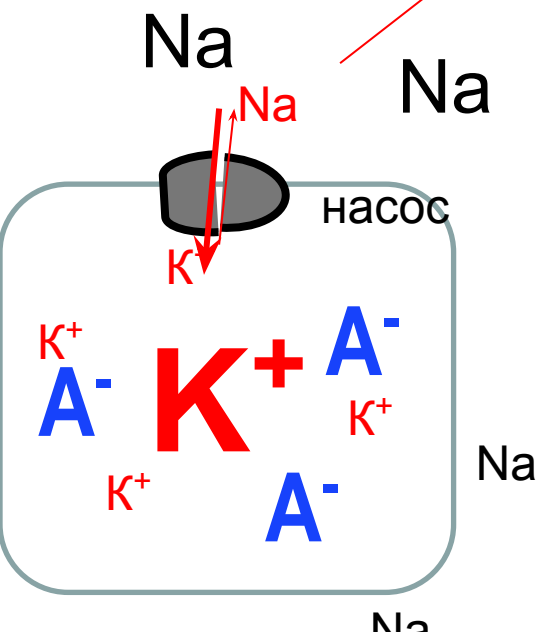


Иоганнес Мюллер

Все это -
жизненная сила!

1901-1911 Мембранная теория

У КЛЕТКИ - избирательная
проницаемость к КАЛИЮ и калия
очень много в клетке, поэтому...

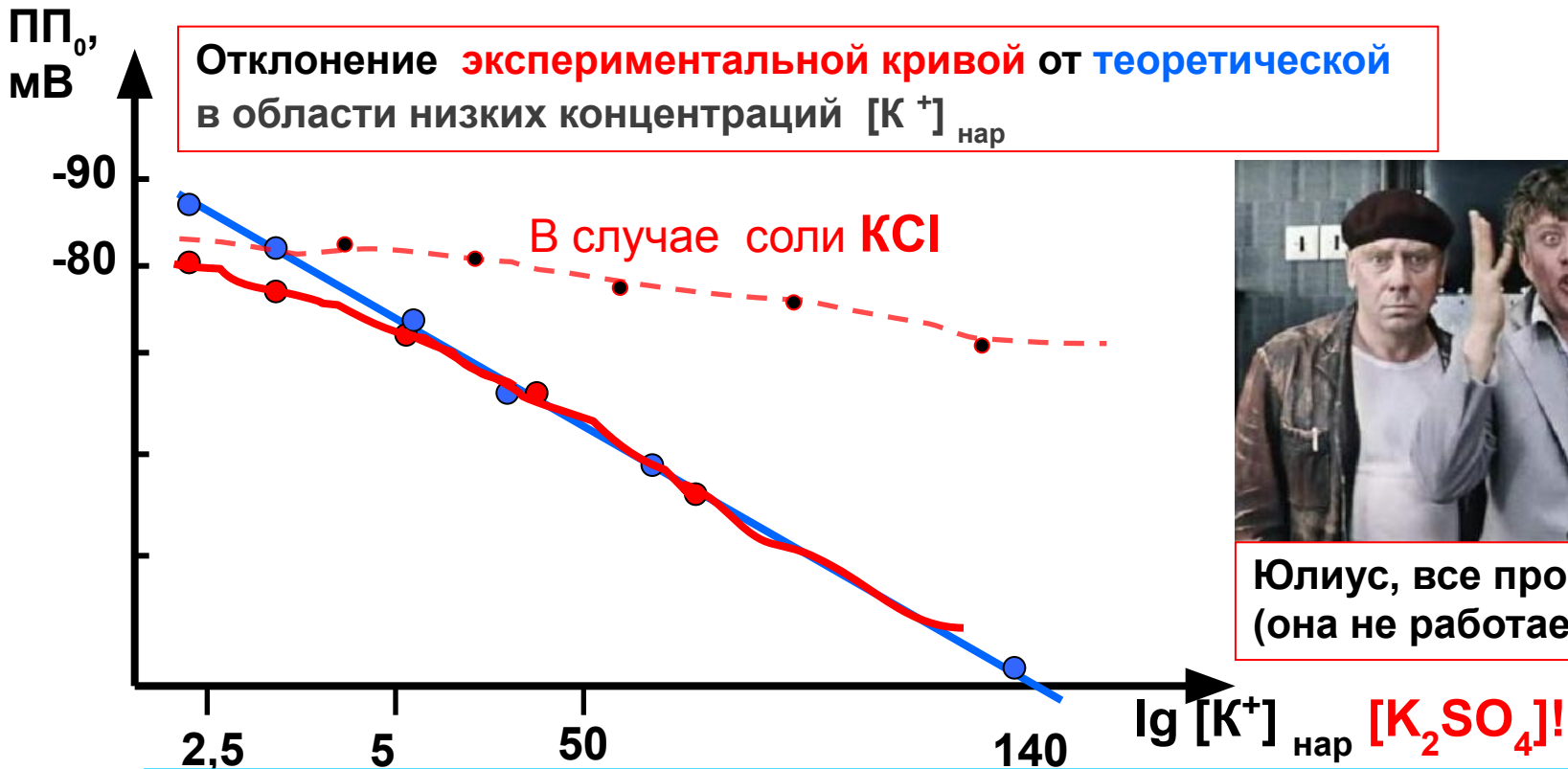


Экспериментальные подтверждения мембранной теории Ю. Бернштейна

При 20°C

$$V_M = -581g \frac{[K^+]_{вн}}{[K^+]_{нар}}$$

1. Измерения МП мышечных волокон при разной температуре. Определение темпер. коэффициента $Q_{10} \sim 1,03-1,3$
Косвенное подтверждение диффузионной, а не метаболической природы ПП
2. Измерения зависимости МП от $[K^+]_{нар}$ – хорошо соответствует



Юлиус, все пропало!!!
(она не работает???)

Что будет с $ПП_0$ клетки, если мембрана клетки проницаема и к калию, и к хлору?

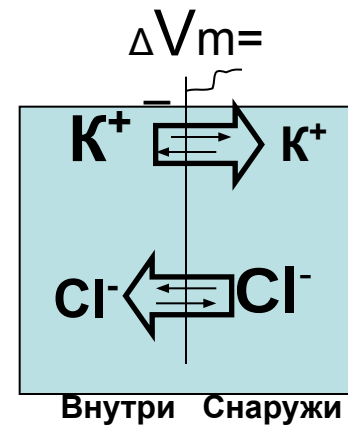
Следствия из наличия у мембраны проницаемости к двум ионам:

к калию, и к хлору

1. Сохраняется основная идея Бернштейна о том, что ПП_0 - РАВНОВЕСНЫЙ потенциал для проницаемых ионов.

$$\text{ПП}_0 = E_{\text{равн K}} = E_{\text{равн Cl}}$$

2. В отличие от потока калия наружу, движение хлора внутрь клетки сопровождается изменениями концентраций ионов в клетке.



40-е годы XX века

Модель мембраны, проницаемой к трем ионам – калию, хлору и НАТРИЮ

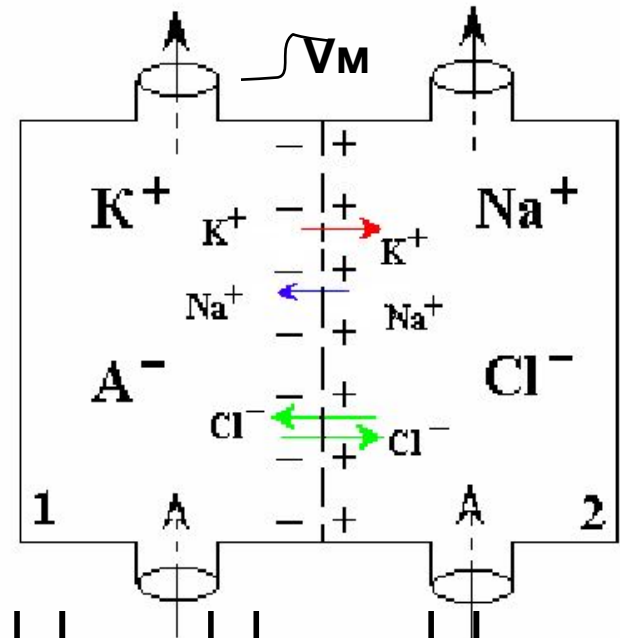
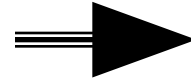
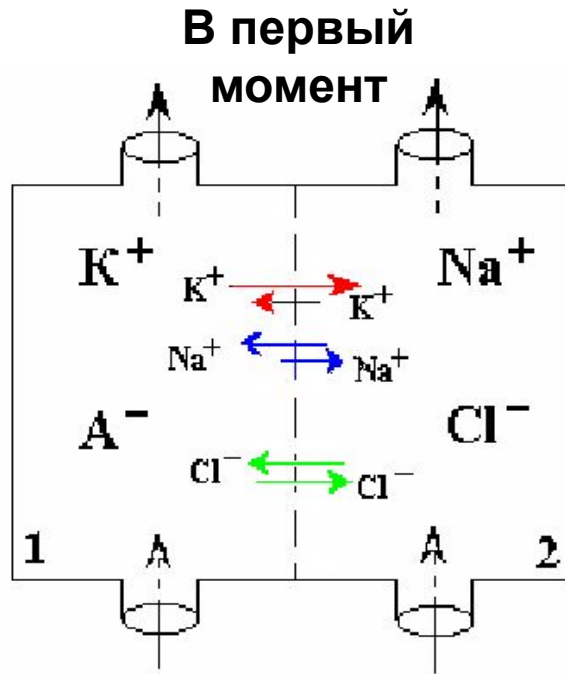
ДАНО: $\text{ПП}_0 = -80\text{ мВ}$; $E_{\text{равн Na}} = +30\text{ мВ}$, а мембрана клетки пропускает ионы натрия !?

Если мембрана клетки проницаема и к натрию, то потенциал покоя не может быть равновесным для трансмембранных потоков ионов натрия и других проникающих ионов – калия и хлора

$$\text{ПП}_0 \neq E_{\text{равн K}} \neq E_{\text{равн Cl}} \neq E_{\text{равн Na}}$$

Вопрос: как же формируется и удерживается стабильный ПП_0 порядка -80 мВ ?

Модель электролитической ячейки, проницаемой к трем ионам



$$I_K + I_{Na} + I_{Cl} = 0$$

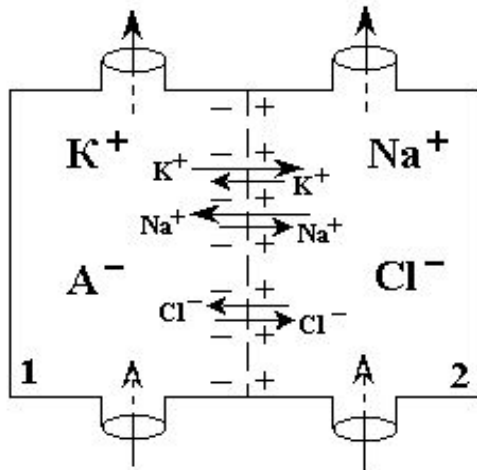
В результате формируется -
стационарный потенциал покоя
при котором
разностные токи
калия, натрия и хлора в сумме
равны нулю.

Внутри клетки

Через мембрану текут **три**
противоположно направленных
ионных тока -
калия, натрия, хлора.

Каждый из токов участвует в
создании потенциала на
мембране

Модель мембраны с тремя проникающими ионами



Уравнение Голдмана – Ходжкина – Катца
 «В момент установления V_M ионные потоки K^+ , Cl^- , Na^+ остаются не выравненными».
Но! Их алгебраическая сумма равна нулю!!!

$$I_K + I_{Na} + I_{Cl} = I_K + I_{Na} + I_{Cl}$$

$$\therefore \sum M_{K,Na,Cl} = 0$$

$$I_K + I_{Na} + I_{Cl} = 0$$

$$P_{K^+} > 0; P_{Cl^-} > 0; P_{Na^+} > 0;$$

Но! $P_A = 0$ и камеры – проточные.

Уравнение разностного тока для токов натрия, калия и хлора

$$I_i = \frac{F^2}{RT} \cdot P \cdot V_M \cdot \frac{[i]_i - [i]_o \cdot e^{-\frac{VF}{RT}}}{1 - e^{-\frac{VF}{RT}}}$$

$$P_K [K^+]_1 \cdot e^{-\frac{V}{RT}} + P_{Na} [Na^+]_1 \cdot e^{-\frac{V}{RT}} + P_{Cl} [Cl^-]_2 \cdot e^{-\frac{V}{RT}} = P_K [K^+]_2 + P_{Na} [Na^+]_2 + P_{Cl} [Cl^-]_1$$

$$e^{-\frac{V}{RT}} (P_K [K^+]_1 + P_{Na} [Na^+]_1 + P_{Cl} [Cl^-]_2) = P_K [K^+]_2 + P_{Na} [Na^+]_2 + P_{Cl} [Cl^-]_1$$

Решаем для V_M и прологарифмировав, получаем

$$V_M = \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{P_K [K^+]_1 + P_{Na} [Na^+]_1 + P_{Cl} [Cl^-]_2}{P_K [K^+]_2 + P_{Na} [Na^+]_2 + P_{Cl} [Cl^-]_1}$$

МОДЕЛЬ МЕМБРАНЫ С ТРЕМЯ ПРОНИКАЮЩИМИ ИОНАМИ

Уравнение Голдмана-Ходжкина-Катца

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K \cdot [K^+]_{вн} + P_{Na} \cdot [Na^+]_{вн} + P_{Cl} \cdot [Cl^-]_{нар}}{P_K \cdot [K^+]_{нар} + P_{Na} \cdot [Na^+]_{нар} + P_{Cl} \cdot [Cl^-]_{вн}}$$

ВОПРОС:

Как соотносятся величины проницаемостей

P_K P_{Na} P_{Cl}

между собой при потенциале покоя?

$PP_0 = -70 - -100$ мВ

Модель мембраны с тремя проникающими ионами

Уравнение Гольдмана- Ходжкина – Катца

$$V_M = \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{P_K [K^+]_1 + P_{Na} [Na^+]_1 + P_{Cl} [Cl^-]_2}{P_K [K^+]_2 + P_{Na} [Na^+]_2 + P_{Cl} [Cl^-]_1}$$

Проницаемость P (см/сек) и **Проводимость g** (сименс) иона через мембрану

$$V_M = \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{g_K [K^+]_в + g_{Na} [Na^+]_в + g_{Cl} [Cl^-]_н}{g_K [K^+]_н + g_{Na} [Na^+]_н + g_{Cl} [Cl^-]_в}$$

Пассивная
проницаемость иона
– P_i (см/сек)

обусловлена
физическими
свойствами канала
утечки,
НЕ зависит от V_M

Проводимость g – показатель ионного тока,
текущего через мембрану при $V_m \neq E_{равн}$

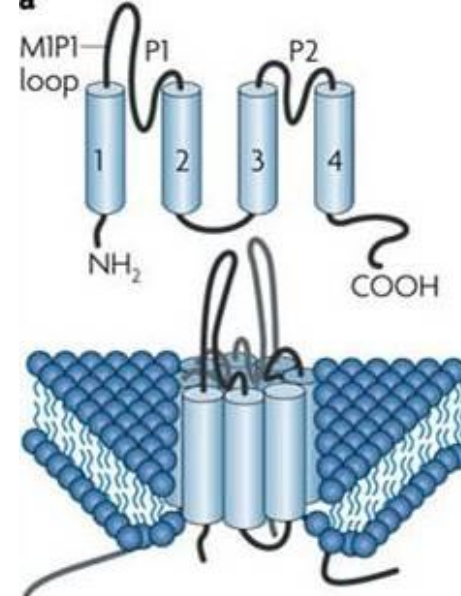
$$g_i = \frac{I_i}{V_m - E_{равн}}$$

Зависит от P и
концентрации ионов

Каналы пассивной ионной проводимости

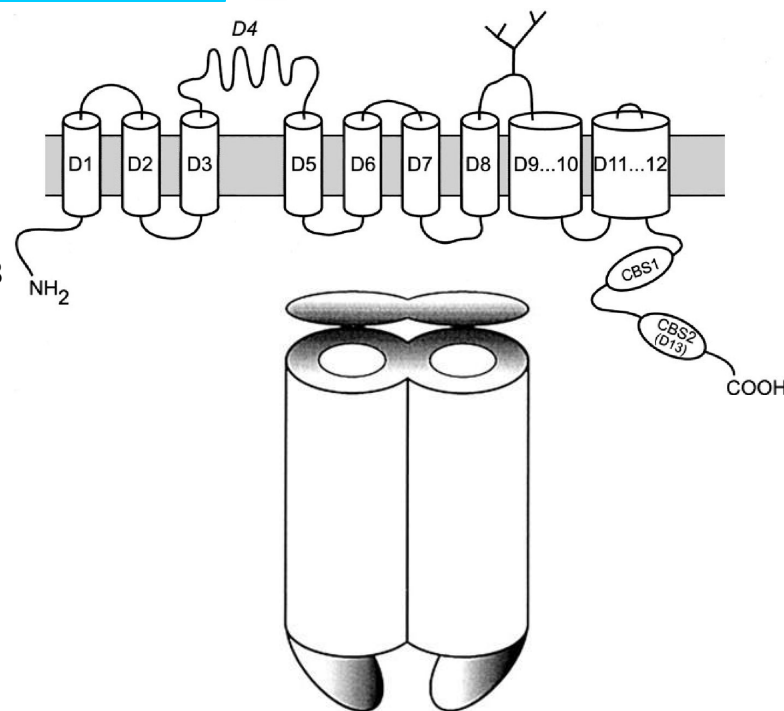
В нейронах и других клетках обнаружены и выделены белковые молекулы, функционирующие как каналы пассивной проницаемости для:

- Ионов калия (~15 подтипов) - димеры
- Ионов хлора
- Для ионов Na^+ специальных каналов утечки не найдено!



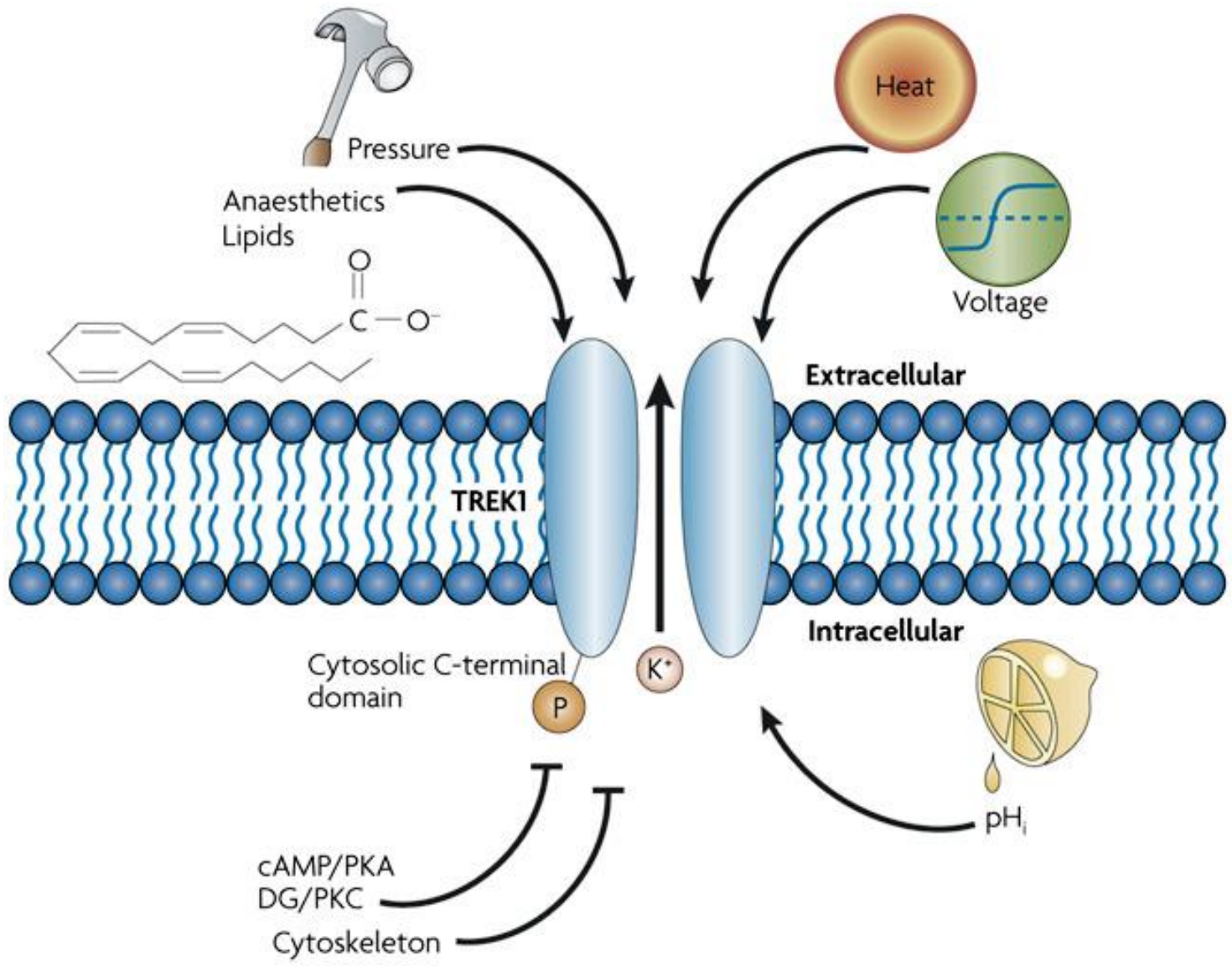
Свойства каналов утечки:

1. Канал обладает избирательной проницаемостью к определенному виду ионов (только калия или только хлора)
2. Канал находится в открытом состоянии ПОСТОЯННО, не зависимо от потенциала на мембране! Нет ворот!!!
3. Каналы пассивной проницаемости обуславливают движение ионных токов через мембрану и сдвигов ПП в отсутствие ПД (электротон и т.п. подпороговые сдвиги МП)

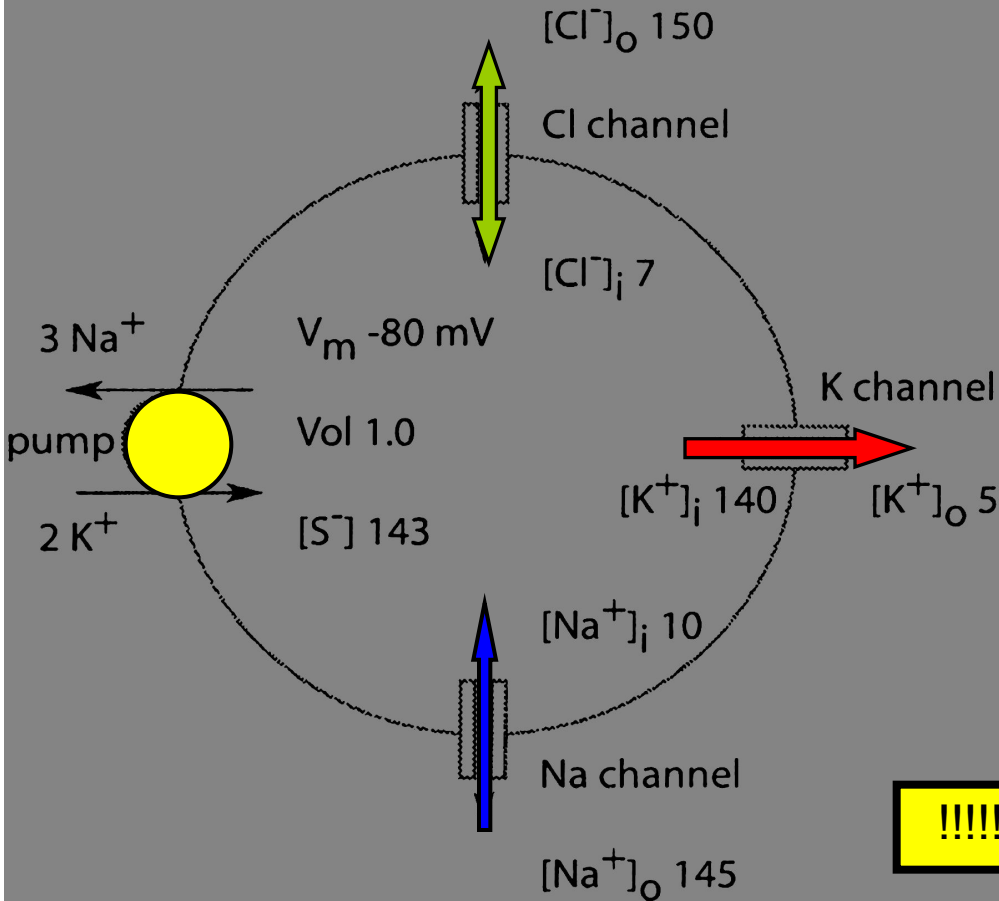


Каналы пассивной ионной проводимости

способны реагировать на различные воздействия



1. В состоянии ПОКОЯ мембрана клетки **проницаема** к трем видам ионов – к **калию**, **натрию**, **хлору**.
2. Потенциал покоя (PP_0) клетки – стабильная величина. PP_0 **не является равновесным потенциалом** ни для суммарных потоков ионов калия, ни для суммарных потоков ионов натрия.
3. В состоянии покоя через мембрану клетки текут пассивные ионные токи - ток калия I_{K^+} - **наружу**, ток натрия I_{Na^+} – **внутри** клетки.



4. В клетке должен существовать механизм для поддержания **постоянства** концентрационных градиентов **Na** и **K** и **постоянства** PP_0 .

$PP_0 = -80 \text{ мВ}$

$E_{K \text{ равн}} = 58 \lg C_{out} / C_{in} = -90 \text{ мВ}$

$E_{Na \text{ равн}} = 58 \lg C_{out} / C_{in} = +30 \text{ мВ}$

!!!! Выкачивание Na^+ и закачивание K^+

Mg²⁺-зависимая, Na⁺-, K⁺-активируемая аденозинтрифосфатаза (Na⁺/K⁺-АТФаза)

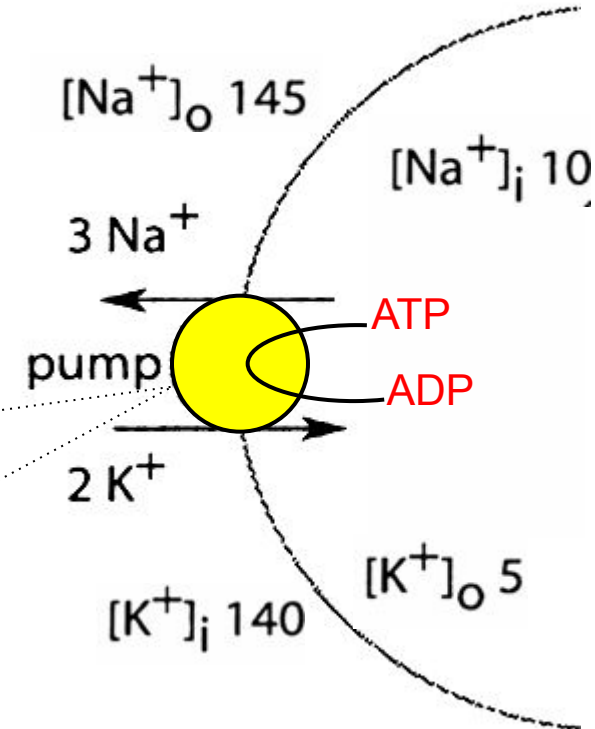
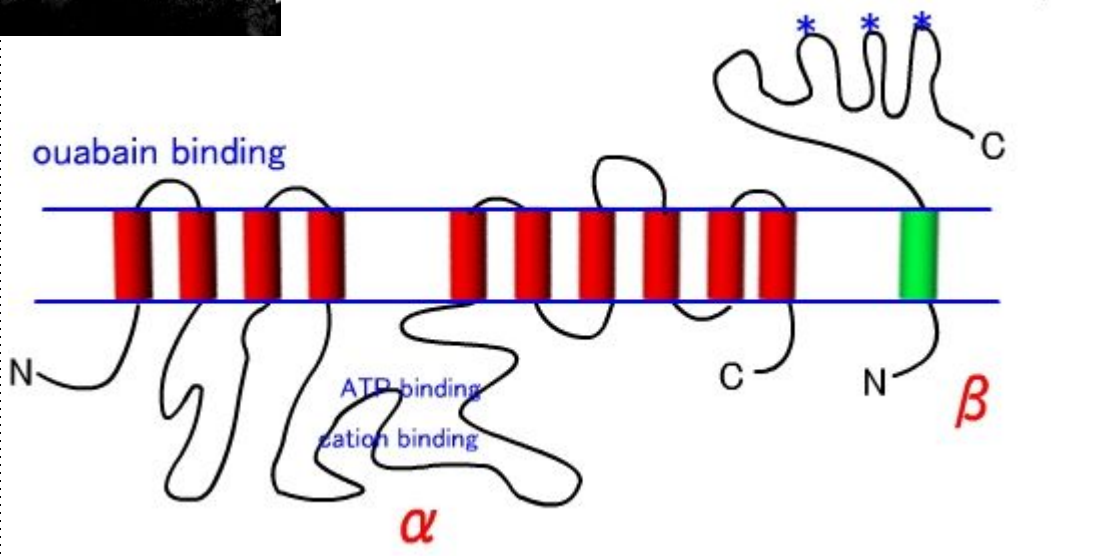
обеспечивает перенос ионов Na и K против электрохимического градиента



Jens Christian Skou

(1957)

The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves // Biochim. et. Biophys. Acta, 23, 394-401



- α – каталитическая (10 ТМ-доменов **M1 - M10**), ~ 100 кДа (4 изоформы)

- β – регуляторная, ~ 45 кДа (3 изоформы)

+ γ-субъединица - регуляторная, ~ 10 кДа, относится к группе FXYD-белков

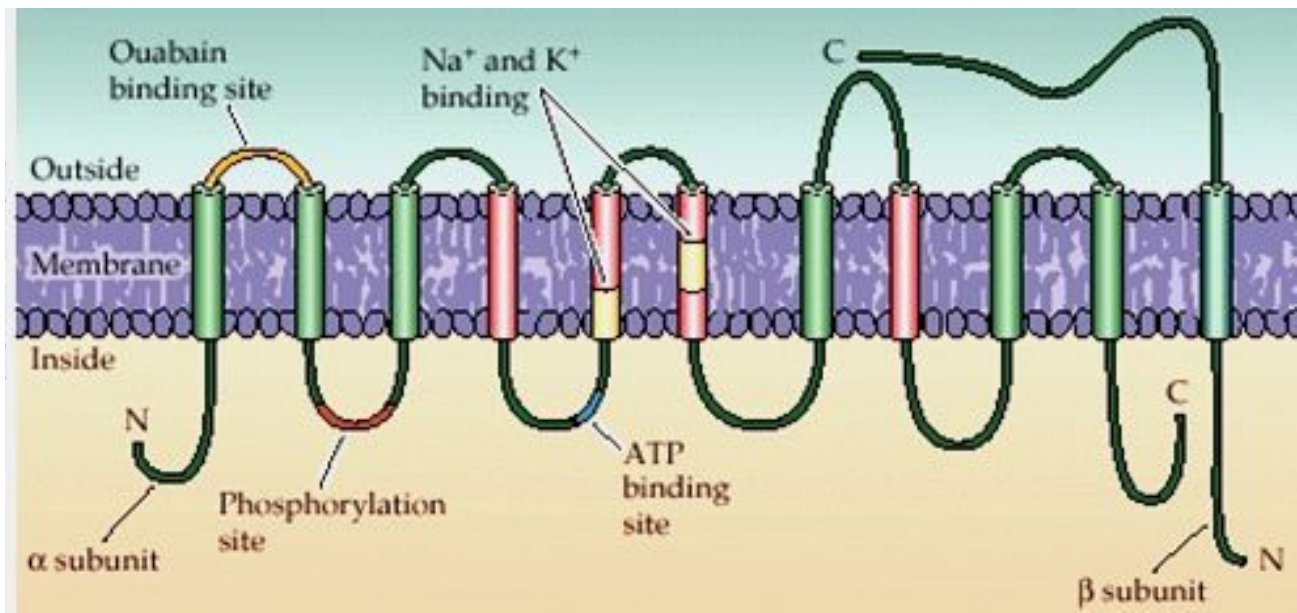
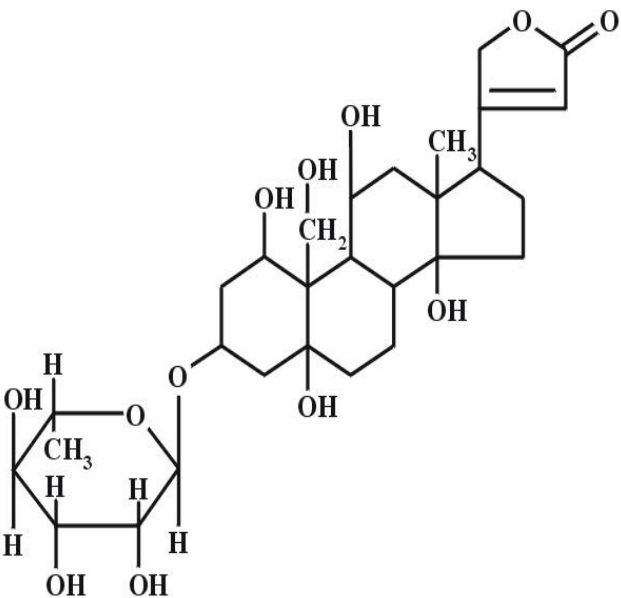
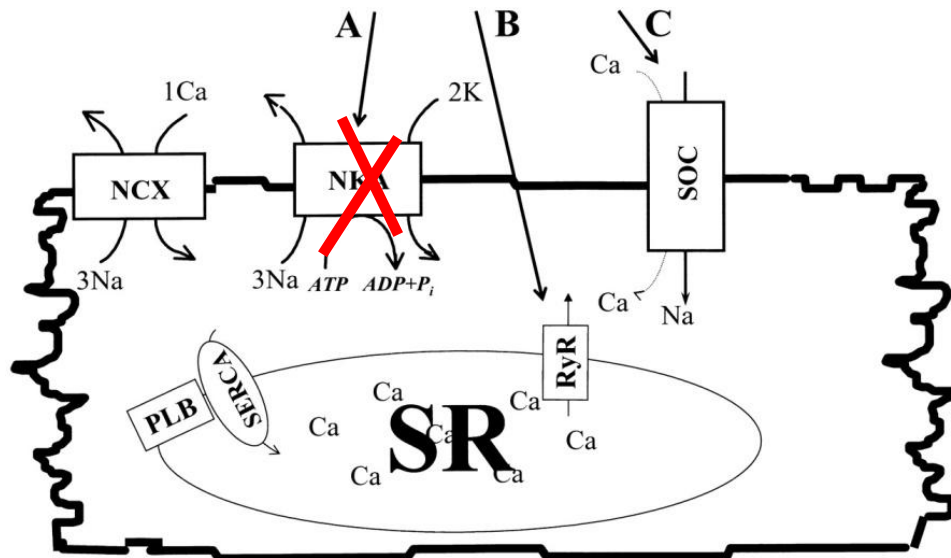
Каталитическая активность Na/K-АТФазы высокоизбирательно ингибируется сердечными гликозидами

В 1785 году Визеринг сообщил об использовании листьев наперстянки для лечения сердечной недостаточности.

Действующим началом являлся дигитоксин, соединение, относящееся к сердечным гликозидам – группе **стероидных О-гликозидов**.

Наиболее известным соединением этого ряда является **оубаин**.

Cardiac Glycosides



Электрогенная функция Na/K-АТФазы

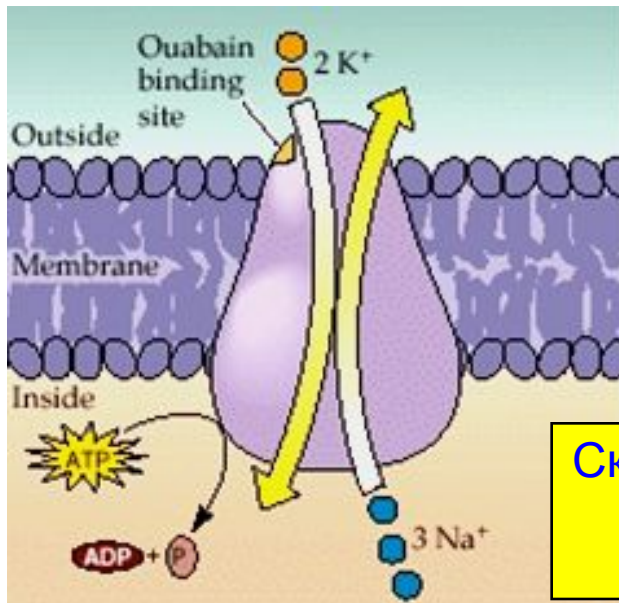
При стехиометрии переноса

$$\gamma = 3/2$$

Работа насоса создает
выходящий ток катионов (Na)



**ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИЯ
МЕМБРАНЫ**
(«электрогенность»)



$$M_{Na}/M_K = 3/2$$

Скорость работы насоса :
~150 - 600 Na⁺/сек

Факторы, влияющие на величину дополнительной гиперполяризации (за счет электрогенной компоненты работы насоса):

- Плотность молекул насоса на мембране
- Интенсивность работы насоса (по сравнению с другими токами через мембрану)
- Входное сопротивление мембраны клетки
- Величина PP_0

Рассчитывая число выносимых зарядов (+) каждой молекулой, среднюю плотность молекул насоса на мембране (нейрона или аксона), вычислили плотность электрического тока, создаваемого работой насоса **~1 мкА/см²**

Наличие наряду с пассивными токами калия и натрия (P_K и P_{Na}) еще и **активных потоков** (за счет работы насоса) – вклад которых оценивается через **стехиометрический коэффициент γ** – реально влияет на конечную величину - **СУММАРНОГО** потока калия и **СУММАРНОГО** потока натрия, а значит – и суммарной проницаемости - P'_{Na} и P'_K

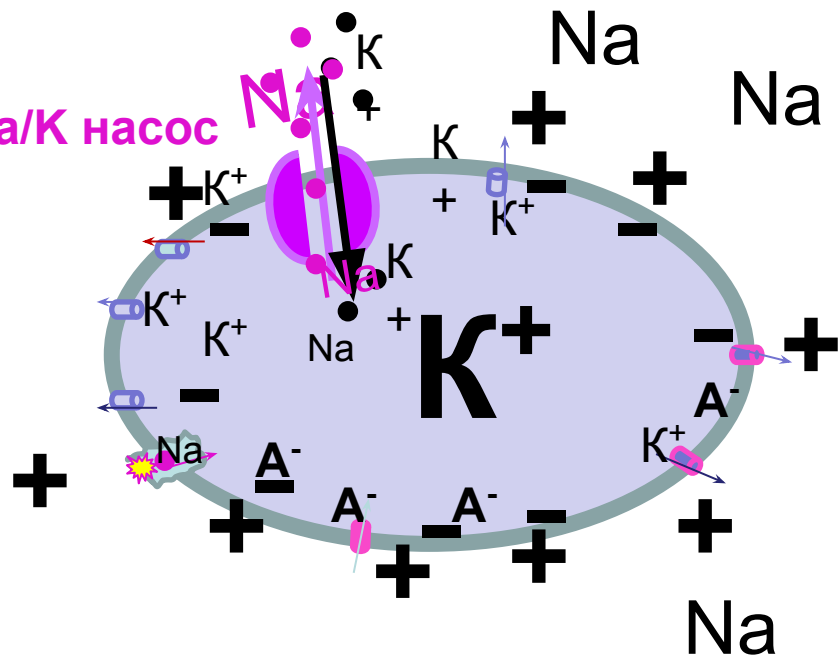
В таком случае наиболее полное и корректное математическое написание V_m должно включать коэффициент γ

$$V_M = \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{P_K [K^+]_в + P_{Na} / \gamma [Na^+]_в}{P_K [K^+]_н + P_{Na} / \gamma [Na^+]_н}$$

ИТАК, клетка заряжена в ПОКОЕ («прибор включен»), но что же тогда такое ВОЗБУЖДЕНИЕ???

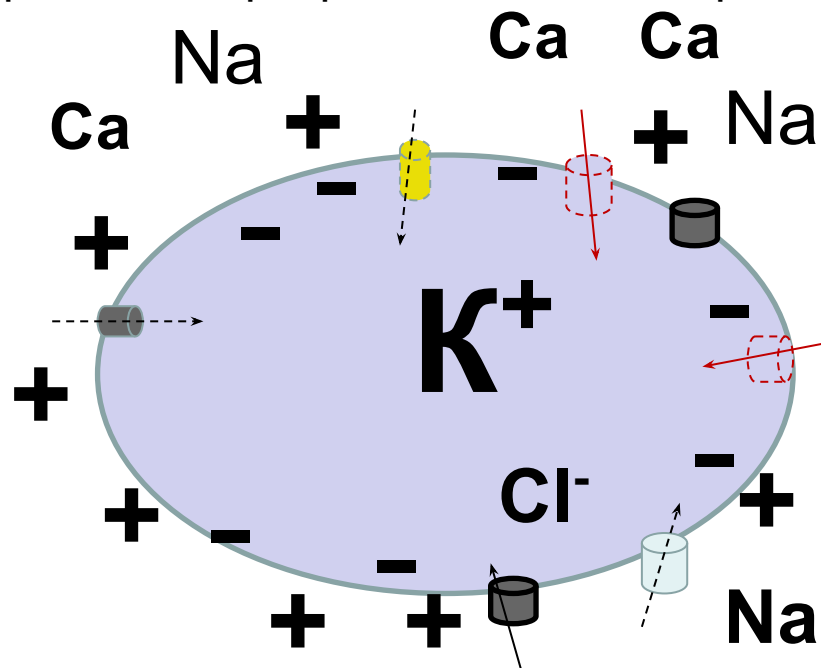
ГИПОТЕЗА:

НЕВОЗБУДИМАЯ КЛЕТКА



МП = -90 мВ

ВОЗБУДИМАЯ КЛЕТКА
при возбуждении клетка **ТЕРЯЕТ**
избирательную проницаемость? что
приводит к разрядке конденсатора???



МП = -90 мВ → 0 мВ

Это приводит к исчезновению потенциала на мембране

Спасибо за внимание...

Вопросы???

