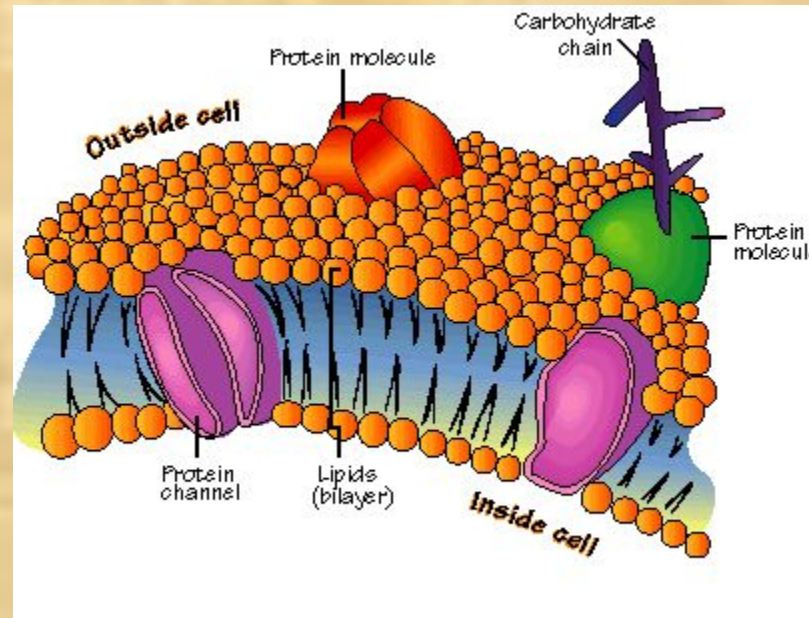


# Раздел: Биофизика мембранных процессов



## Тема: Биологические потенциалы

# **ПОТЕНЦИАЛ ПОКОЯ**

# Биологические потенциалы

- Основная функция БМ-генерация и передача биопотенциалов
- Основа возбудимости клеток
- Регуляция внутриклеточных процессов
- Регуляция работы нервной системы
- Регуляция мышечного сокращения
- Регуляция рецепции

# ЭП позволяют

- Электрокардиография (активность сердца)
- Электроэнцефалография (активность головного мозга)
- Электромиография (мышечная активность)

# Электрические потенциалы

- Окислительно-восстановительные – вследствие переноса электронов от одних молекул к другим
- Мембранные – возникают вследствие градиента концентрации ионов по разные стороны мембраны

Мембранные потенциалы – биопотенциалы, которые в основном регистрируются в организме



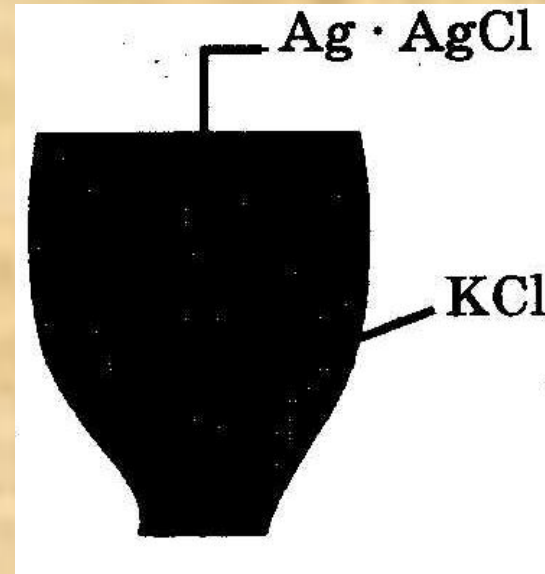
# Экспериментальное исследование БП

- Разработка микроэлектродного метода внутриклеточного измерения БП
- Создание специальных усилителей БП
- Выбор объекта исследования – крупные клетки – АКСОН КАЛЬМАРА  
( $\varnothing \sim 0,5 \text{ мм} > \varnothing \text{ позвоночных}$ )

# Экспериментальное исследование БП

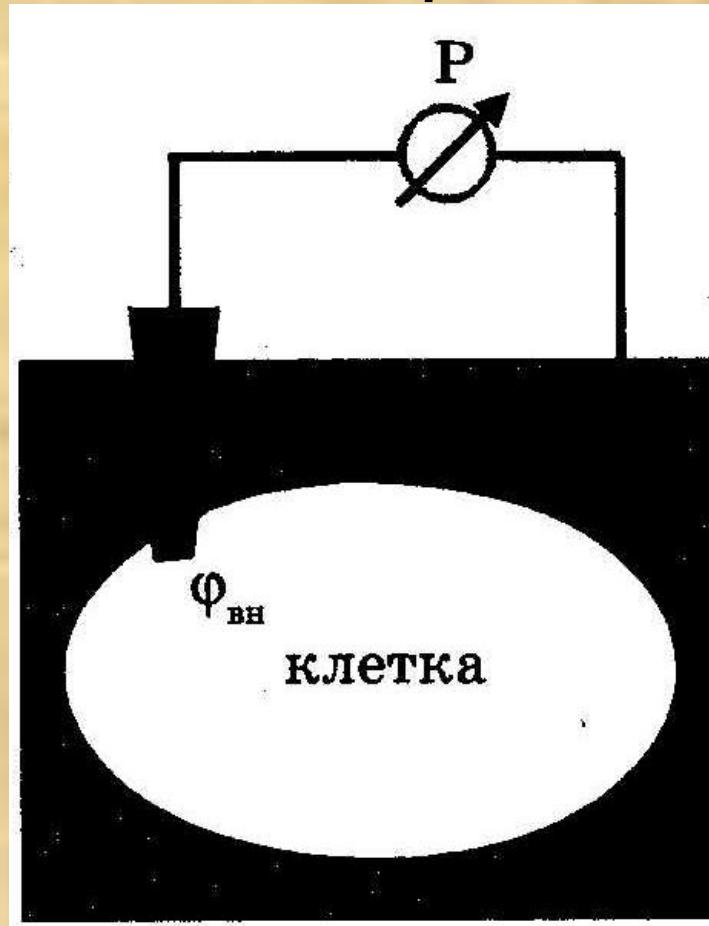


Стеклянная пипетка  
электрод



стеклянный

# Схема регистрации мембранного потенциала



$$\varphi_m = \varphi_{вн} - \varphi_{нар} = \varphi_i - \varphi_o$$



# Виды потенциалов

Потенциал покоя  
действия

- разная концентрация ионов
- диффузия ионов через БМ

Потенциал

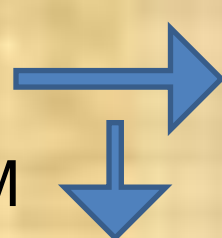
$$\varphi_m = \varphi_{вн} - \varphi_{нар} = \varphi_i - \varphi_o$$

# Потенциал покоя

$$\varphi_m = \varphi_{вн} - \varphi_{нар} = \varphi_i - \varphi_o$$

- Стационарная разность потенциалов в клетке, регистрируемая между наружной и внутренней поверхностью мембраны, находящейся в **невозбужденном** состоянии
- Обусловлен различными концентрациями ионов во внутриклеточном и наружном растворах

- разная концентрация ионов
- диффузия ионов через БМ



- $C_{вн} \neq C_{нар}$
- Мембрана проницаема

**Поток заряженных частиц через БМ**



**Нарушение электронейтральности системы**



$$\varphi_m = \varphi_{вн} - \varphi_{нар} = \varphi_i - \varphi_o$$



**Потенциал препятствует дальнейшему перемещению ионов через БМ**



**Равновесие ЭХП**



Равновесие

ЭХП



$$\bar{\mu}_{\text{вн}} = \bar{\mu}_{\text{нар}}$$

$$\bar{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + ZF\varphi$$

$$RT \ln C_{\text{вн}} + ZF\varphi_{\text{вн}} = RT \ln C_{\text{нар}} + ZF\varphi_{\text{нар}}$$



**формула Нернста-Планка  
для равновесного мембранного  
потенциала**

$$\varphi_M^P = \varphi_{\text{вн}} - \varphi_{\text{нар}} = \frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_{\text{нар}}}{C_{\text{вн}}} = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_{\text{вн}}}{C_{\text{нар}}}$$

# Значения потенциала покоя

Объект	Концентрация, ммоль/л						$\Phi_M^P$ , мВ по формуле Нернста			$\Phi_M^П$ , мВ экспер
	[K <sup>+</sup> ]		[Na <sup>+</sup> ]		[Cl <sup>-</sup> ]		K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	
	вн.	нар.	вн.	нар.	вн.	нар.				
Гигантс- кий аксон	360	10	70	420	160	500	-90	+50	-30	-60
Мышца лягушки	125	2,5	15	125	11	120	-98	+60	-87	-94



# Формула Нернста-Планка для равновесного мембранного потенциала

$$\varphi_m^p = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_{вн}}{C_{нар}}$$

$$\varphi_{m,K^+}^p = \left[ \begin{array}{l} Z = +1 \\ [K^+]_{вн} > [K^+]_{нар} \end{array} \right] = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{[K^+]_{вн}}{[K^+]_{нар}} < 0$$

$$\varphi_{m,Na^+}^p = \left[ \begin{array}{l} Z = +1 \\ [Na^+]_{вн} < [Na^+]_{нар} \end{array} \right] = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{[Na^+]_{вн}}{[Na^+]_{нар}} > 0$$

$$\varphi_{m,Cl^-}^p = \left[ \begin{array}{l} Z = -1 \\ [Cl^-]_{вн} < [Cl^-]_{нар} \end{array} \right] = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{[Cl^-]_{вн}}{[Cl^-]_{нар}} < 0$$

# Электродиффузионный транспорт через БМ

Электродиффузия – пассивный транспорт ионов через БМ

$$\mu_{вн} = \mu_{нар}$$

1. Отсутствуют суммарные ионные токи:

Потенциал Нернста определяется концентрацией ионов в растворе

$$\varphi_m^p = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_{вн}}{C_{нар}}$$

2. Ионные токи не равны 0:  $\mu_{вн} \neq \mu_{нар}$

Пассивное движение ионов по градиенту ЭХП возникает диффузионная разность потенциалов, которая зависит от:

- Ионных концентраций
- Подвижности ионов

# Способы описания процесса перехода ионов через БМ

- Дискретный

Ионы преодолевают БМ с помощью нескольких дискретных перескоков через активационные барьеры

Описание транспорта ионов через селективные каналы клеточной мембраны

- Непрерывный

Ионы движутся через БМ независимо и не взаимодействуя друг с другом. БМ является гомогенной фазой

Описание транспорта ионов через искусственные БЛМ

# Непрерывное описание диффузии

- Уравнение Нернста-Планка:

$$\bar{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + ZF\varphi$$

1. ЭХ равновесие  $J = -CU \left( \frac{d\bar{\mu}}{dx} \right) = -URT \frac{dC}{dx} - UZFC \frac{d\varphi}{dx}$
2. Отсутствие ЭХ равновесия
3. Приближение постоянного поля

# ЭХ равновесие

$$\bar{\mu}_1 = \bar{\mu}_2 \Rightarrow \sum J = 0$$

$$\frac{1}{C} \frac{dC}{dx} = - \frac{ZF}{RT} \frac{d\varphi}{dx}$$

$$\Delta\varphi = \varphi_2 - \varphi_1 = \varphi_m = \frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_o}{C_i} = \varphi_m^0$$

**Потенциал Нернста – определение равновесной разности потенциалов на БМ – мембранный потенциал**



# Потенциал Нернста для одновалентных ионов

$$\varphi_m^0 = \pm \frac{8,3 \frac{\text{Дж}}{\text{Кмоль}} * 300 \text{К}}{1 * 96500 \frac{\text{Кл}}{\text{моль}}} 2,3 * \ln \frac{C_o}{C_i} = \pm 0,06 \ln \frac{C_o}{C_i}$$

$$K^+ : \varphi_m^{\text{экспер}} = \varphi_m^0$$

- 1902г Берштейн – причина возникновения мембранного потенциала – диффузия ионов  $K^+$  из клетки во внеклеточную среду

# Отсутствие ЭХ равновесия

- Подход Гендерсона-Планка:
  - Концентрация катионов и анионов в любой плоскости, перпендикулярной направлению переноса – одинаковая:

$$C_{+} = C_{-} = C$$

- В стационарном состоянии электрический ток через БМ отсутствует
- Для бинарного электролита:  $Z^{+} = -Z^{-} = 1$

# Отсутствие ЭХ равновесия

$$J = -U_{RT} \frac{dC}{dx} - U_{ZFC} \frac{d\varphi}{dx}$$

$$J_+ = J_-$$

$$U_+ RT \frac{dC}{dx} + U_+ FC \frac{d\varphi}{dx} = U_- RT \frac{dC}{dx} - U_- FC \frac{d\varphi}{dx}$$

$$\frac{d\varphi}{dx} = \frac{U_- - U_+}{U_- + U_+} \frac{RT}{F} \frac{1}{C} \frac{dC}{dx}$$

$$\Delta\varphi = \varphi_2 - \varphi_1 = \varphi_m = \frac{U_- - U_+}{U_- + U_+} \frac{RT}{F} \ln \frac{C_i}{C_o}$$

# Уравнение Гендерсона

$$\varphi_m = \frac{U_- - U_+}{U_- + U_+} \frac{RT}{F} \ln \frac{C_2}{C_1}$$

$U_+$   $U_-$  - подвижность катиона и аниона в БМ

расчет диффузионного потенциала, возникающего между двумя электролитами

Уравнение Гендерсона применимо:

- Для мембран макроскопической толщины 1 мкм

- Не применимо для липидных и клеточных мембран,

где не выполняется условие локальной

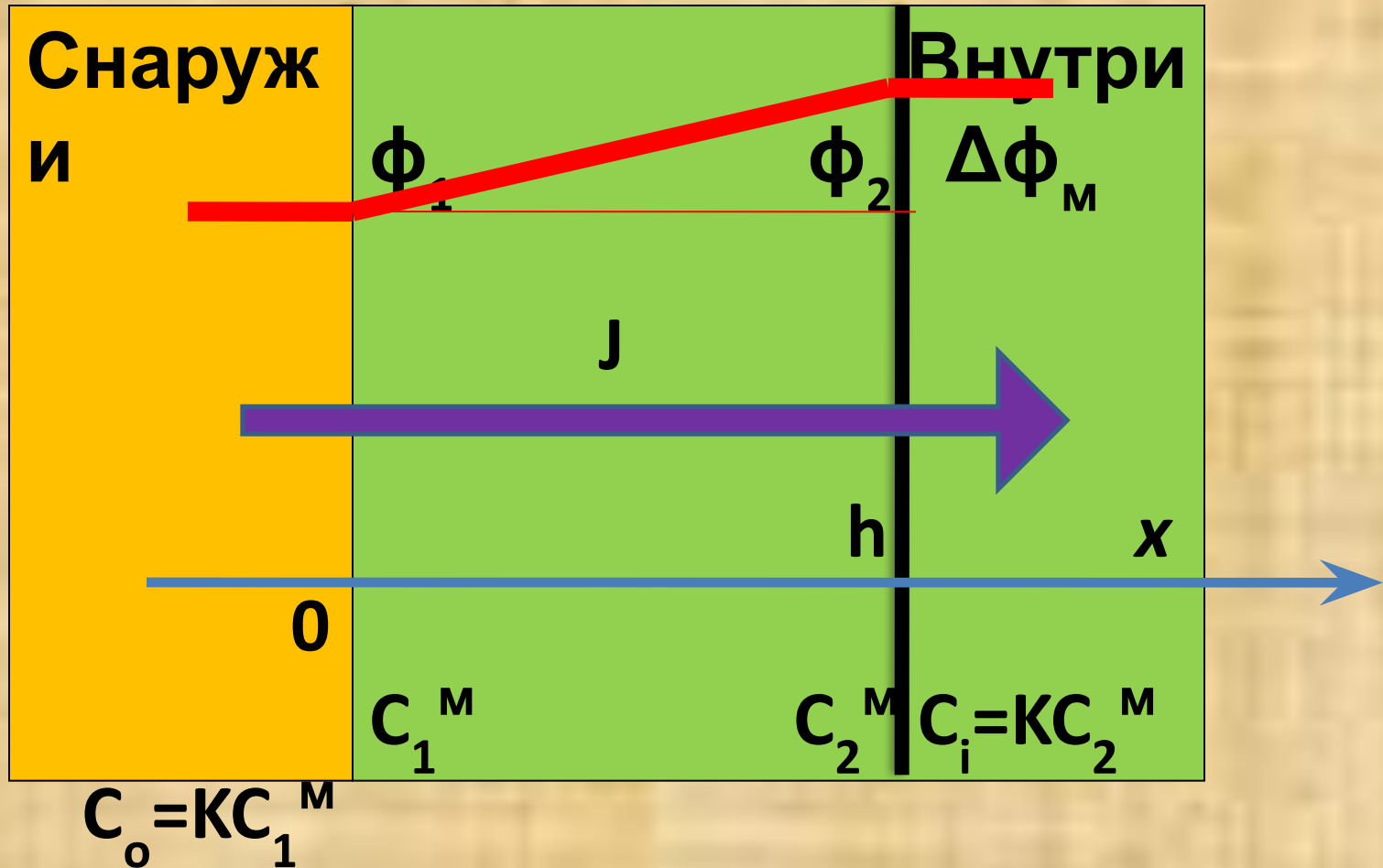
электронейтральности по всей толщине мембраны

# Приближение постоянного поля

- Предположение о линейности изменения потенциала ЭП по всей толщине БМ  $\frac{d\varphi}{dx} \approx E = const$
- Для тонких БМ, в которых концентрация носителей мала, а толщина двойного слоя – велика



# Приближение постоянного поля



# Профиль поля - линейен

$$\frac{d\varphi}{dx} = \frac{\Delta\varphi}{h} = \frac{\varphi_M}{h} = \text{const}$$

$$J = -URT \frac{dC}{dx} - UZFC \frac{d\varphi}{dx}$$

$$\frac{dC}{dx} + \frac{ZFC}{RT} \frac{d\varphi}{dx} = -\frac{J}{URT}$$

$$\frac{dC}{dx} + AC = -B$$

$$\int_{C_1^M}^{C_2^M} \frac{dC}{AC + B} = -\int_0^h dx$$

$$\int_{C_1^M}^{C_2^M} \frac{dC}{AC + B} = - \int_0^h dx$$

$$\frac{B}{A} = \frac{C_2^M - C_1^M e^{-Ah}}{e^{-Ah} - 1}$$

$$J = \frac{UFZ}{h} \varphi_M \frac{C_2^M - C_1^M \exp\left[-\frac{ZF}{RT} \varphi_M\right]}{\exp\left[-\frac{ZF}{RT} \varphi_M\right] - 1}$$

$$J = \frac{UFZ}{h} \varphi_M \frac{C_2^M - C_1^M \exp\left[-\frac{ZF}{RT} \varphi_M\right]}{\exp\left[-\frac{ZF}{RT} \varphi_M\right] - 1} = \left[ \begin{array}{l} C_1^M = KC_0 \\ C_2^M = KC_i \end{array} \right]$$

$$J = \frac{ZF}{RT} \varphi_M P \frac{C_i - C_o \exp\left[-\frac{ZF}{RT} \varphi_M\right]}{\exp\left[-\frac{ZF}{RT} \varphi_M\right] - 1}$$

$$P = \frac{URT}{h} K$$

$$P = \frac{URT}{h} K$$

- $P$  – коэффициент проницаемости БМ
- $K$  – коэффициент растворения, который зависит от липофильности иона

1943 Гольдман + 1949 Ходжкин и Катц



Разность потенциалов, создаваемая в БМ в результате совместной диффузии ионов

- В равновесии

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

$$P_K [K]_i - P_K [K]_o \exp\left[-\frac{F\varphi_M}{RT}\right] +$$
$$+ P_{Na} [Na]_i - P_K [Na]_o \exp\left[-\frac{F\varphi_M}{RT}\right] +$$
$$+ P_{Cl} [Cl]_o - P_K [Cl]_i \exp\left[-\frac{F\varphi_M}{RT}\right] = 0$$

$$\varphi_m = -\frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K]_i + P_{Na} [Na]_i + P_{Cl} [Cl]_o}{P_K [K]_o + P_{Na} [Na]_o + P_{Cl} [Cl]_i}$$

- Потенциал на БМ определяется:
  - Различием в стационарных концентрациях ионов по обе стороны БМ
  - Разными коэффициентами проницаемости БМ для различных ионов

# Соотношение Уссинга- Теорелла

$$J = J_i - J_o$$

$$\vec{J} = J_i = \frac{ZFP}{RT} \varphi_m \frac{C_o}{1 - \exp\left(\frac{ZF}{RT} \varphi_m\right)}$$

$$\overleftarrow{J} = J_o = \frac{ZFP}{RT} \varphi_m \frac{C_i \exp\left(\frac{ZF}{RT} \varphi_m\right)}{1 - \exp\left(\frac{ZF}{RT} \varphi_m\right)}$$

$$\frac{J_i}{J_o} = \frac{C_o}{C_i \exp\left(\frac{ZF}{RT} \varphi_m\right)}$$

# Критерии пассивного транспорта

- Поток ионов через БМ обусловлен:
  - Только градиентом концентрации ионов к-го типа
  - Действием ЭП
  - Нарушение соотношения Уссинга-Теорелла – существование **АКТИВНОГО ТРАНСПОРТА**

# ПОТЕНЦИАЛ ДЕЙСТВИЯ



# Потенциал действия

- Открыт в 18 в. Луиджи Гальвани:
- 1. мышечные сокращения препарированной лягушки могут вызваться электрическим импульсом
- 2. сама живая система является источником электрического импульса

# Потенциал действия

- 19в. Гельмгольц: показано, что скорость распространения нервного импульса (1-100 м/с) значительно меньше скорости распространения электрического импульса по проводам ( $3 \cdot 10^8$  м/с)

# Потенциал действия

- 20 в. А.Ходжкин: нервный импульс-импульс электрического тока
- 1963 г. Ходжкин, Хаксли и Икклс – Нобелевская премия по медицине «за оперирование нервных клеток»

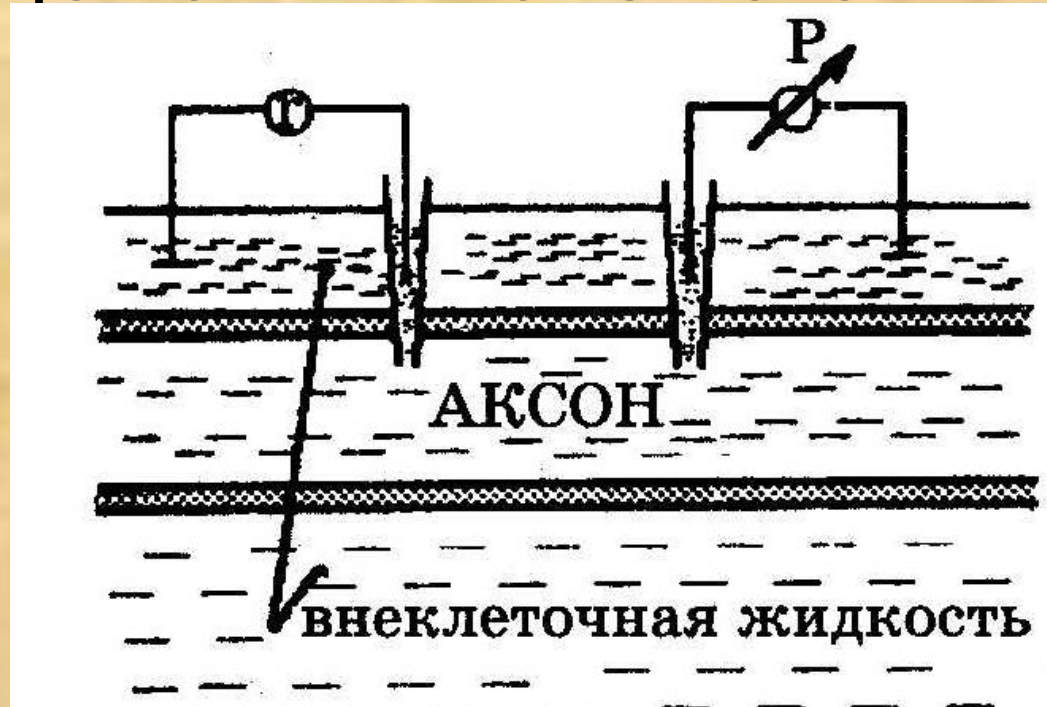
# Потенциал действия

- Электрический импульс, обусловленный изменением ионной проницаемости мембраны и связанный с распространением по нервам и мышцам волны возбуждения

Методы:

1. Микроэлектродов с использованием высокоомных измерителей напряжения
2. Меченных атомов

# Исследование потенциала действия: схема опыта

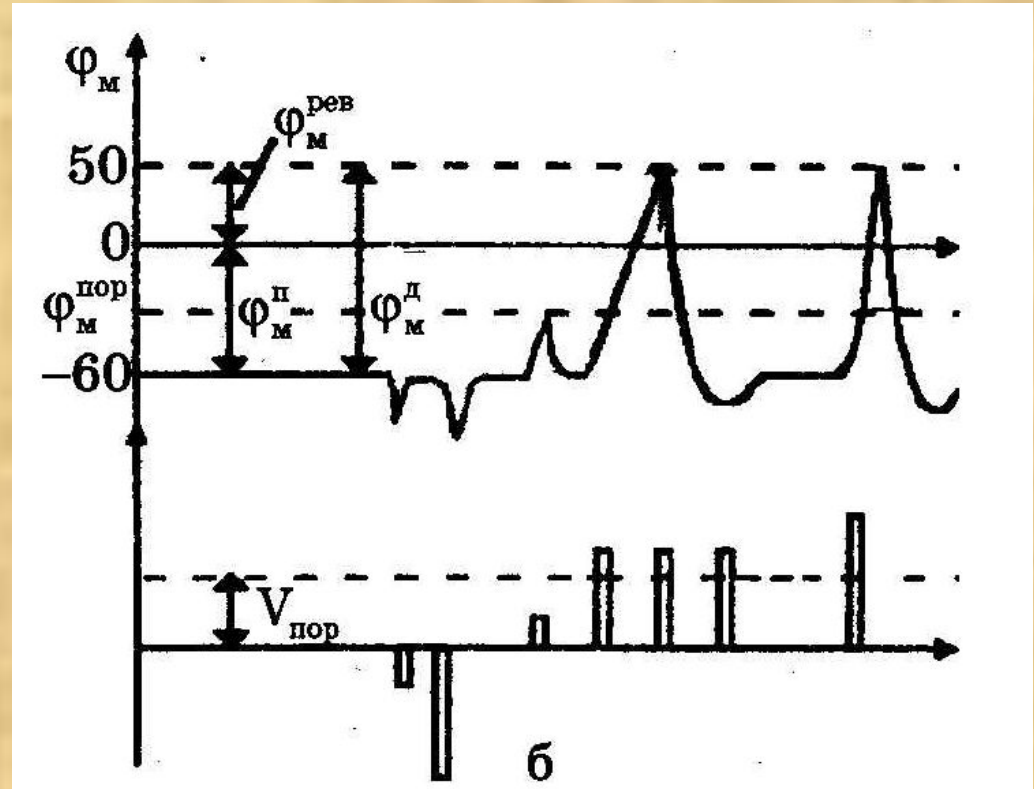


**Г – генератор импульсов**

**Р – регистратор напряжения**



# Регистрация потенциала действия



$\varphi_M^n$  – потенциал покоя

$\varphi_M^{\text{rev}}$  – потенциал реверсии

$\varphi_M^{\text{Д}}$  – амплитуда потенциала действия

$\varphi_M^{\text{пор}}$  – пороговый потенциал

Потенциал действия – ПД – не  
зависит от амплитуды  
деполяризирующего потенциала

$$\varphi_m^D = \left| \varphi_m^n \right| + \varphi_m^{rev}$$

$\varphi_m^n$  – потенциал покоя

$\varphi_m^{rev}$  – потенциал реверсии

$\varphi_m^D$  – амплитуда потенциала действия

# Свойства ПД

1. Наличие порогового значения деполяризующего потенциала
2. Закон «все или ничего»
3. Период рефрактерности
4. Резкое снижение сопротивления БМ в момент возбуждения (покой:  $0,1 \text{ Ом} \cdot \text{м}^2$ , возбуждение:  $0,0025 \text{ Ом} \cdot \text{м}^2$ )

Положительный потенциал  
реверсии имеет Na природу

$$\varphi_m = -\frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K]_i + P_{Na} [Na]_i + P_{Cl} [Cl]_o}{P_K [K]_o + P_K [Na]_o + P_K [Cl]_i}$$

$$\varphi_m = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_{внут}}{C_{нар}}$$

# Проницаемость БМ

- В состоянии покоя:

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0,04 : 0,45$$

- В состоянии возбуждения:

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 20 : 0,45$$



# Уравнение Ходжкина-Хаксли

$$I_m = C_m \frac{d\varphi_m}{dt} + \sum I_i$$

$I_m$  – ток через мембрану

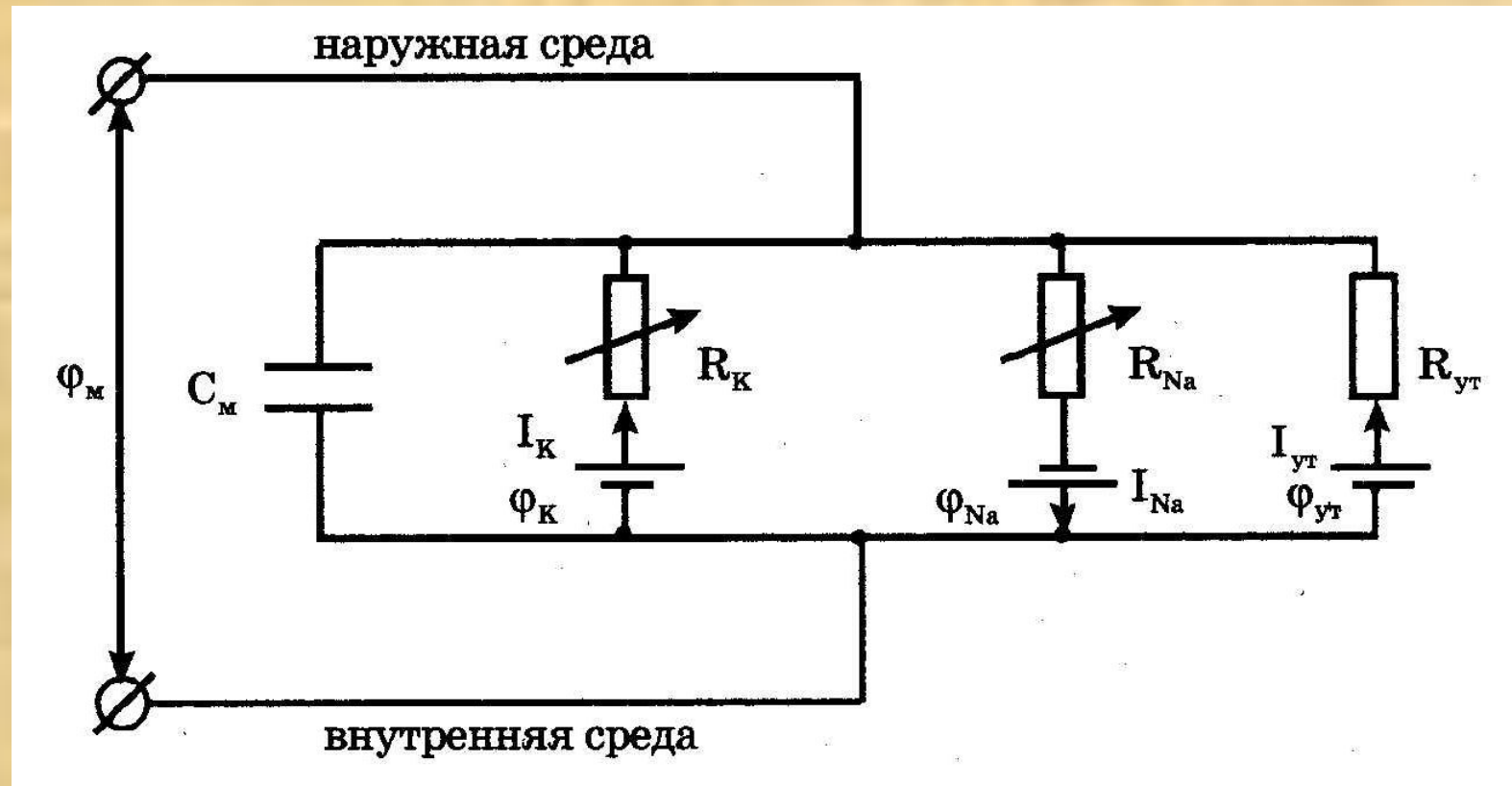
$C_m$  – емкость мембраны

$\sum I_i$  – сумма ионных токов через мембрану

$$I_m = C_m \frac{d\varphi_m}{dt} + I_{K^+} + I_{Na^+} + I_{yt}$$

# Эквивалентная электрическая схема элемента возбудимой мембраны

$$I_M = C_M \frac{d\varphi_M}{dt} + I_{K^+} + I_{Na^+} + I_{yt}$$



$$I_i = g_i (\varphi_m - \varphi_i^p)$$

$$g_i = \frac{1}{R_i} - \text{проводимость мембраны}$$

$$I_m = C_m \frac{d\varphi_m}{dt} + g_K (\varphi_m - \varphi_K^p) + g_{Na} (\varphi_m - \varphi_{Na}^p) + g_{yt} (\varphi_m - \varphi_{yt}^p)$$

Т. Х-Х: Возбуждение элемента мембраны связано с изменением проводимости мембраны для ионов натрия и калия

# Опыты с фиксацией

## напряжения

$$\varphi_m = \varphi_{вн} - \varphi_{нар}$$

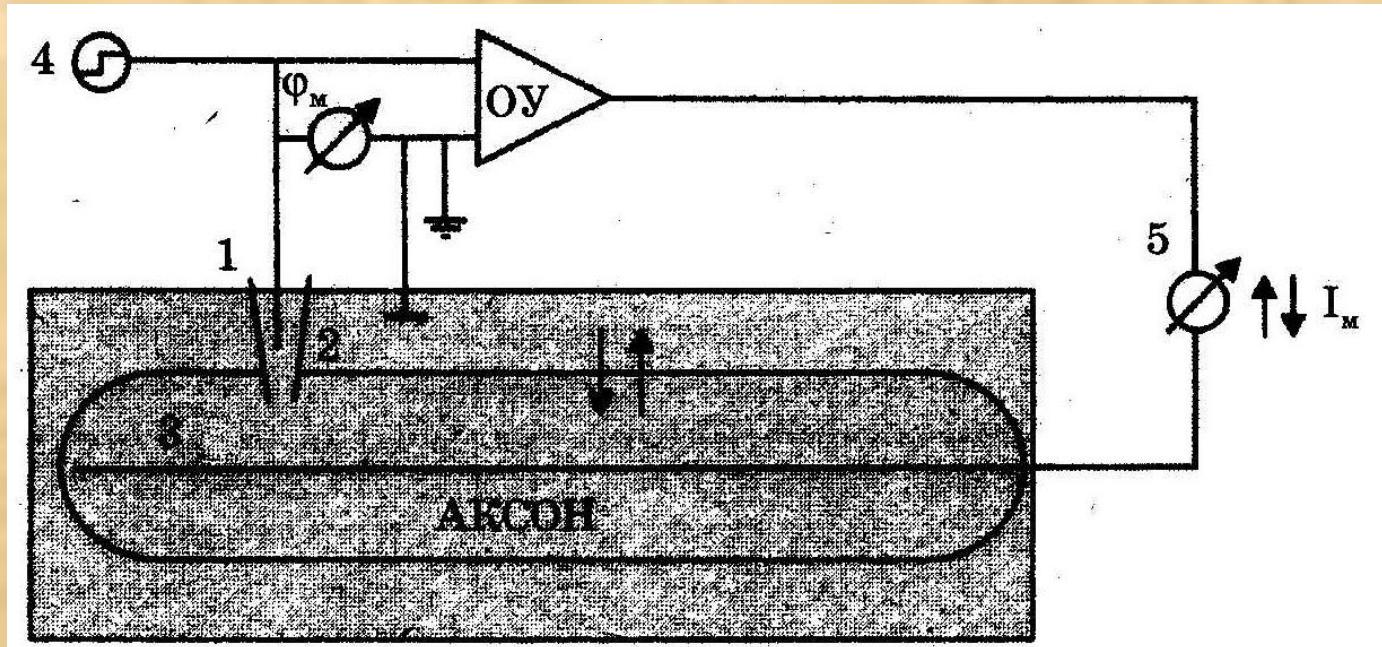
1. избавиться от емкостных токов

$$C_m d\varphi_m / dt$$

2. исключить изменение ионных проводимостей натрия и калия при изменении мембранного потенциала и изучить их изменение в различные фазы развития возбуждения

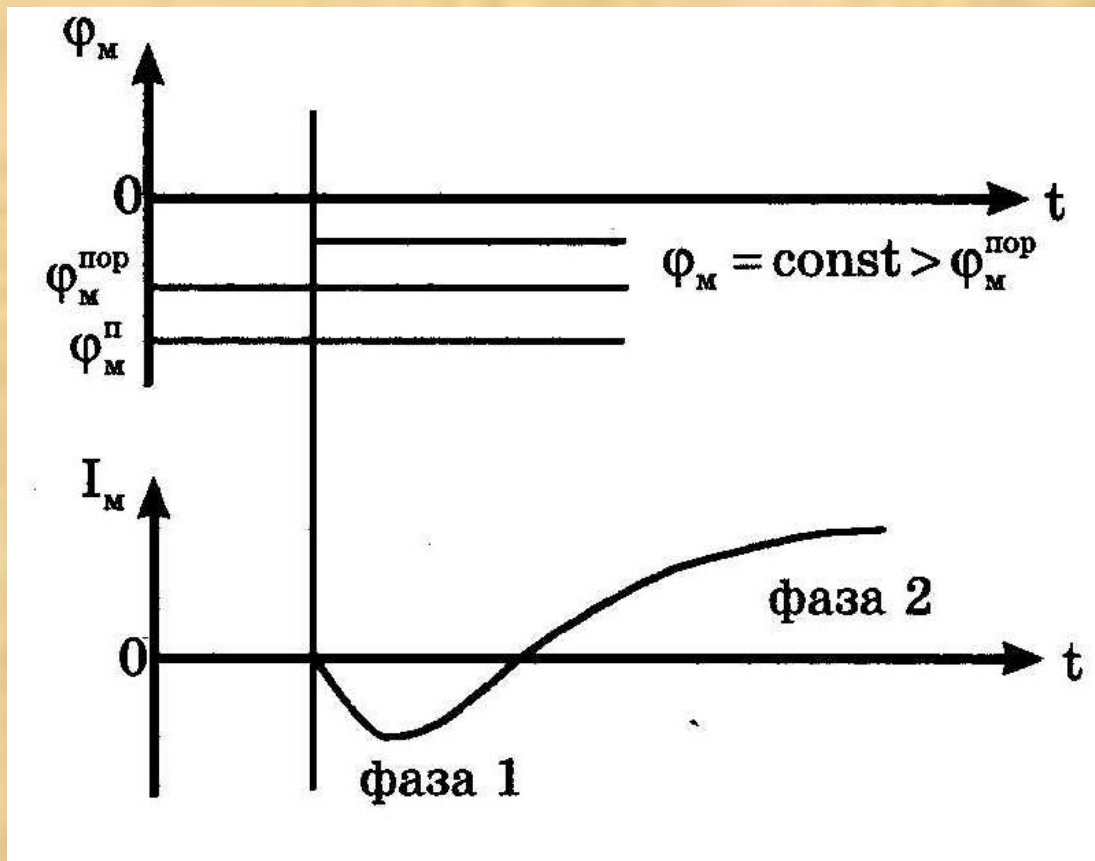


# Схема исследования токов через мембрану с фиксацией мембранного потенциала



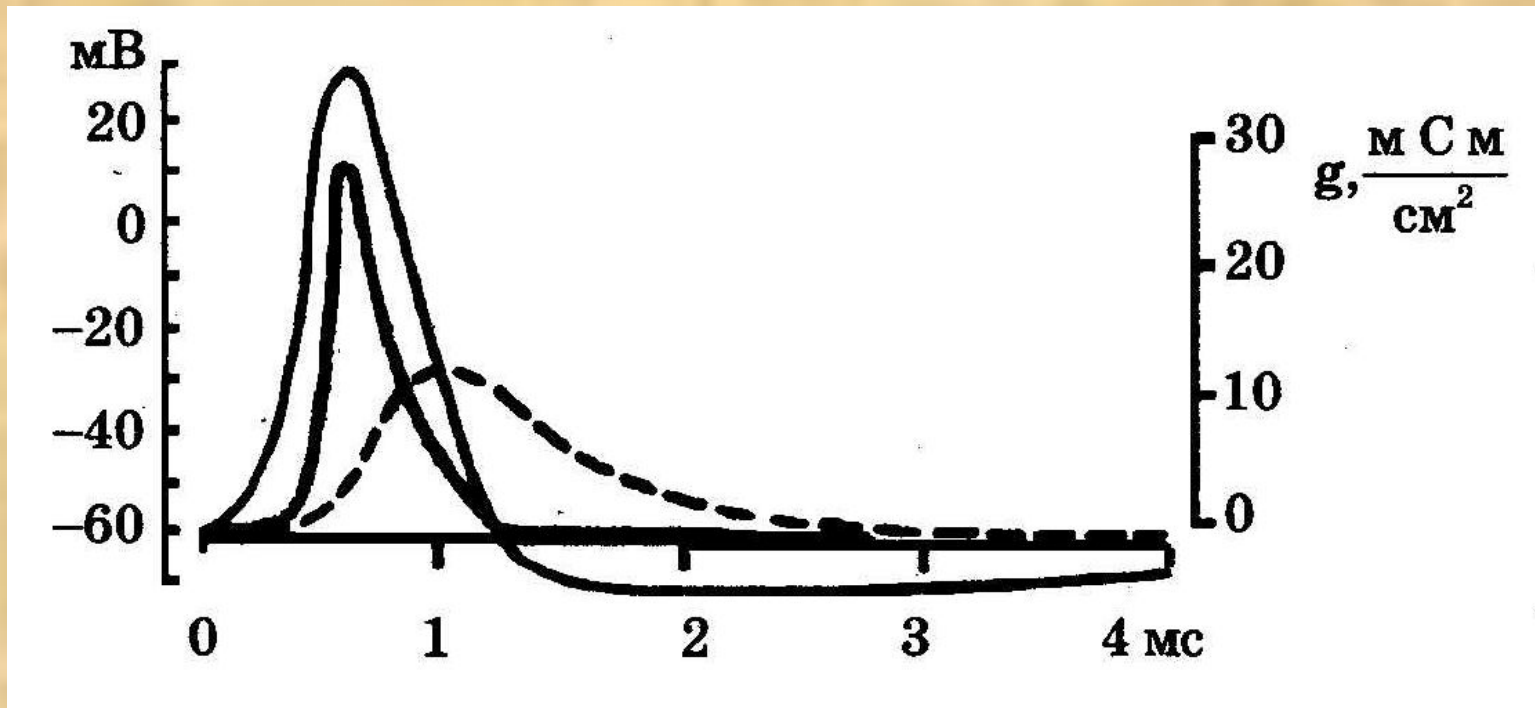
1. Микроэлектрод
2. Электрод сравнения
3. Серебряный проводник
4. Генератор постоянного напряжения
5. Амперметр
6. ОУ – операционный усилитель

# Результаты исследования мембранного тока методом фиксации напряжения





# Изменение проводимости БМ для ионов во время развития ПД



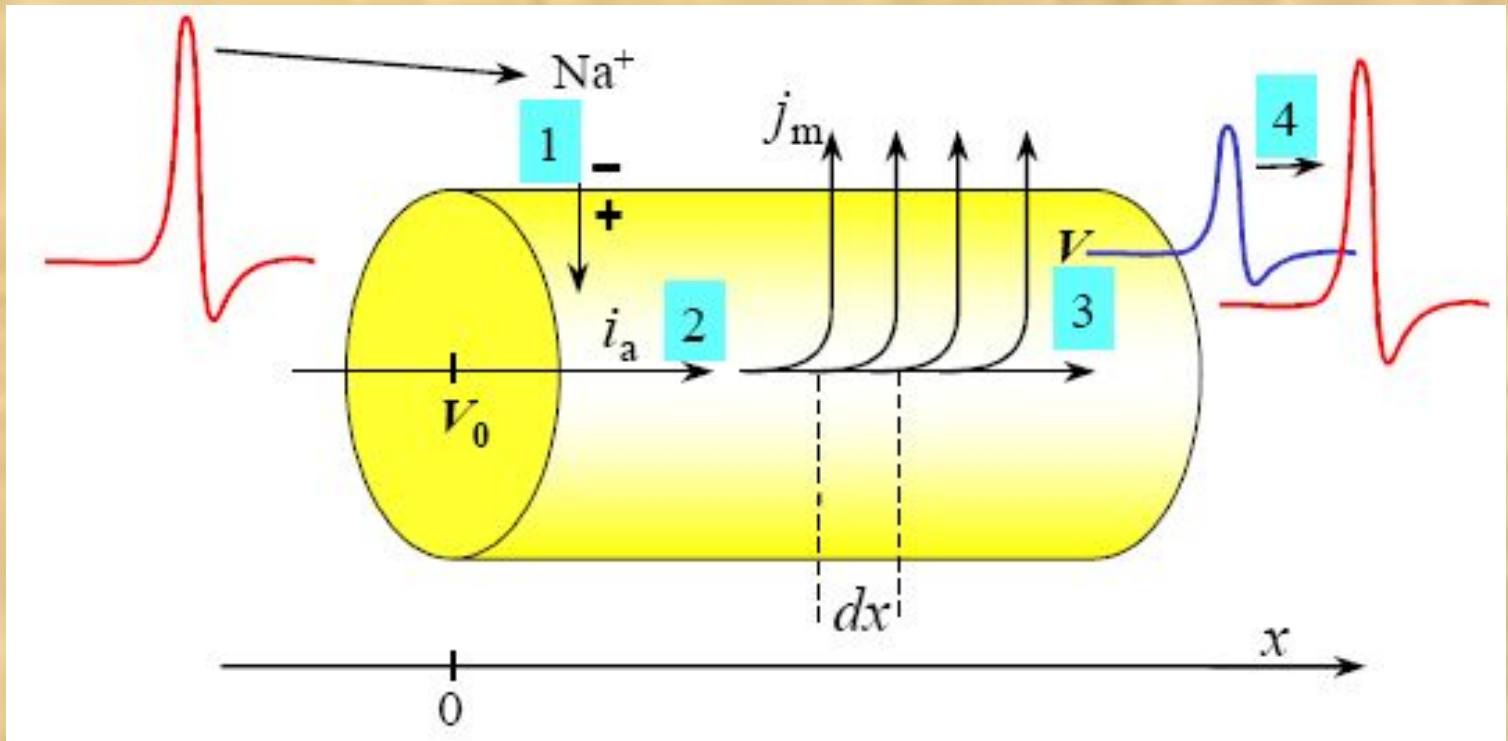
# Распространение нервного импульса вдоль возбудимого волокна

- Возбудимость – способность клеток к быстрому ответу на раздражение, который проявляется через совокупность физических, физико-химических процессов и функциональных изменений.
- Нервная, мышечная, железистая
- Признак возбуждения: изменение электрического состояния клеточной мембраны: возбужденный участок клетки – электроотрицателен по отношению к невозбужденному участку

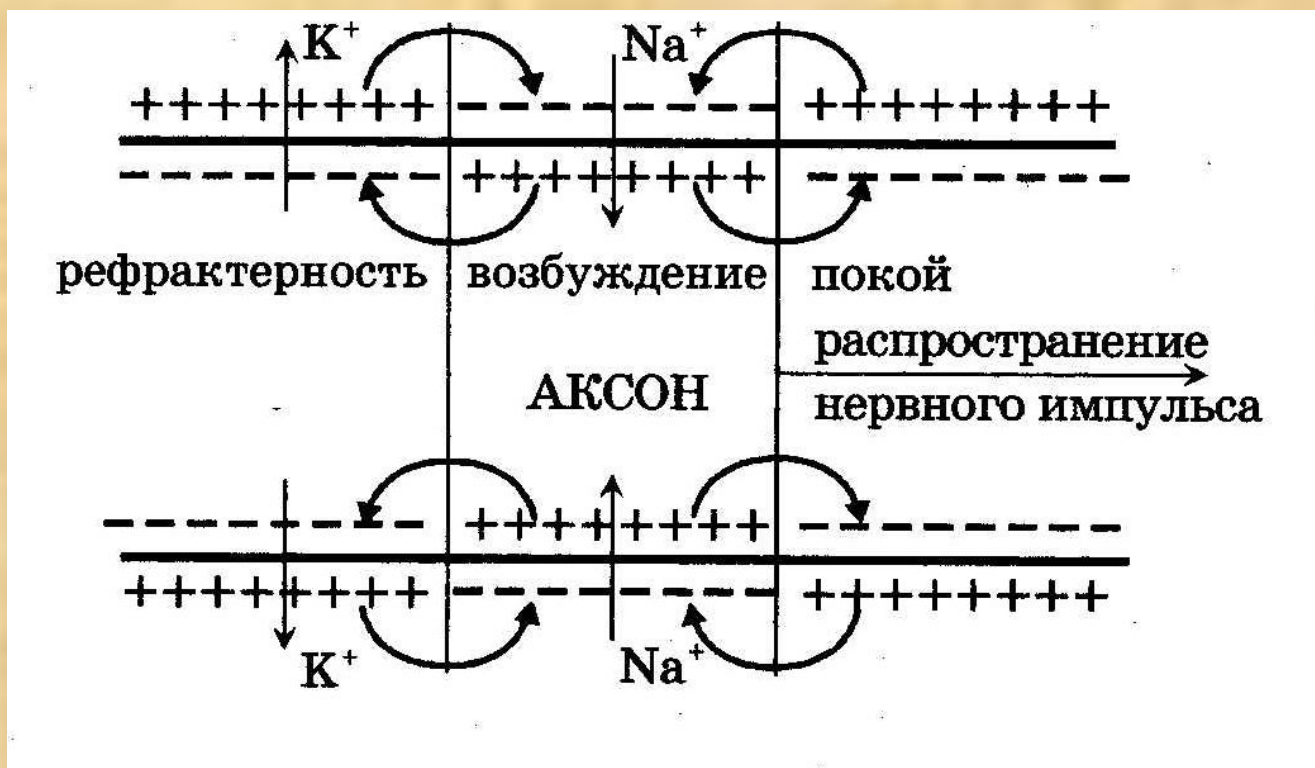
# Потенциал действия

- Общее изменение разности потенциалов между клеткой и средой, происходящее при пороговом и сверхпороговом возбуждении клеток
- Обеспечивает проведение возбуждения по нервным волокнам
- Индуцирует процессы мышечного сокращения
- Индуцирует секрецию железистых клеток

# Распространение потенциала действия по аксону кальмара



# Распространение нервного импульса вдоль нервного волокна

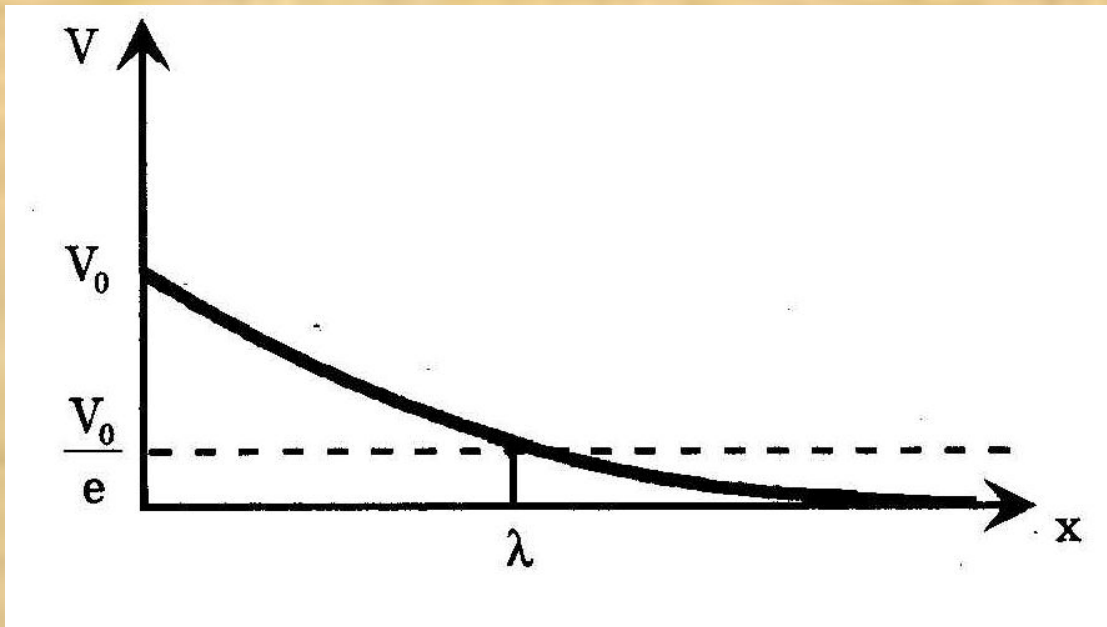




# Деполяризующий потенциал

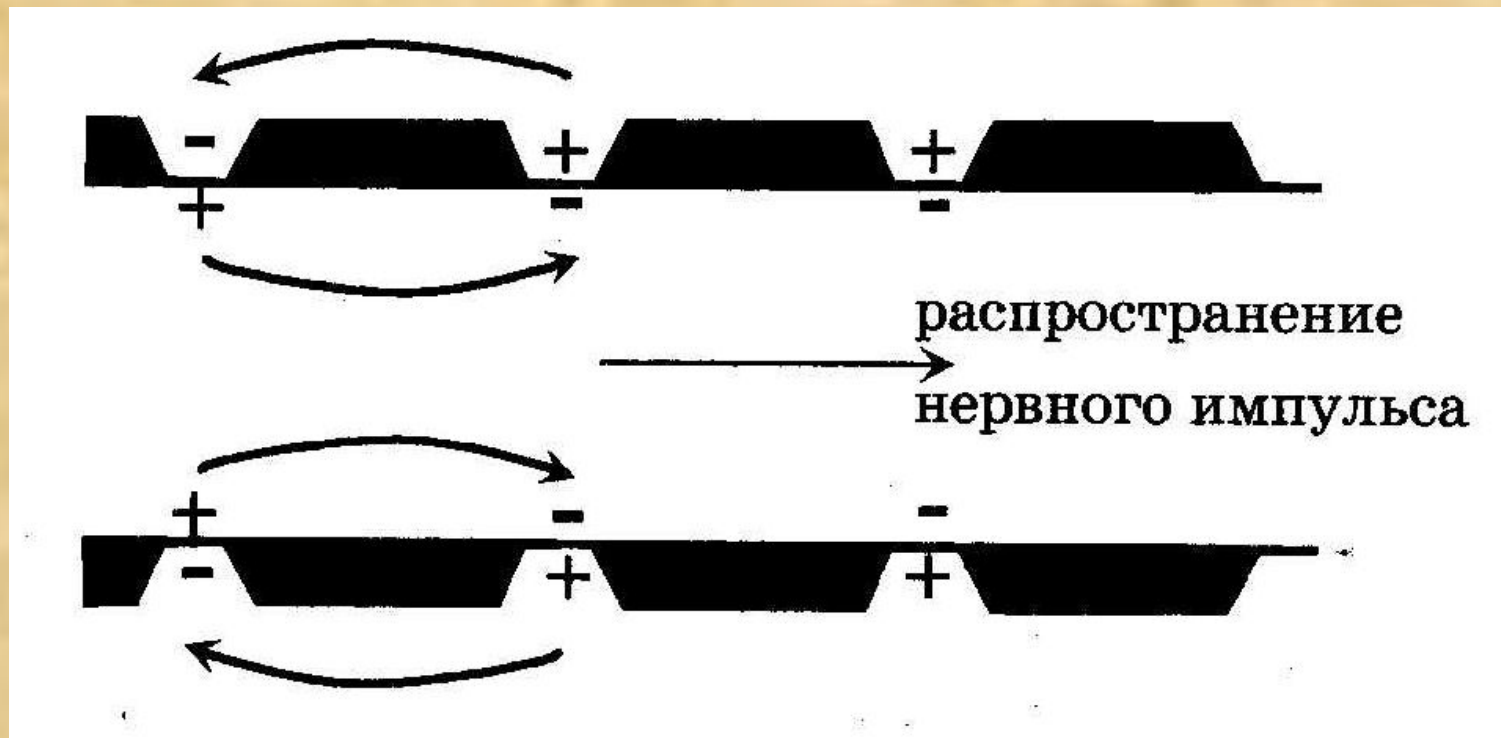
$$V(x) = V_0 e^{-\frac{x}{\lambda}}$$

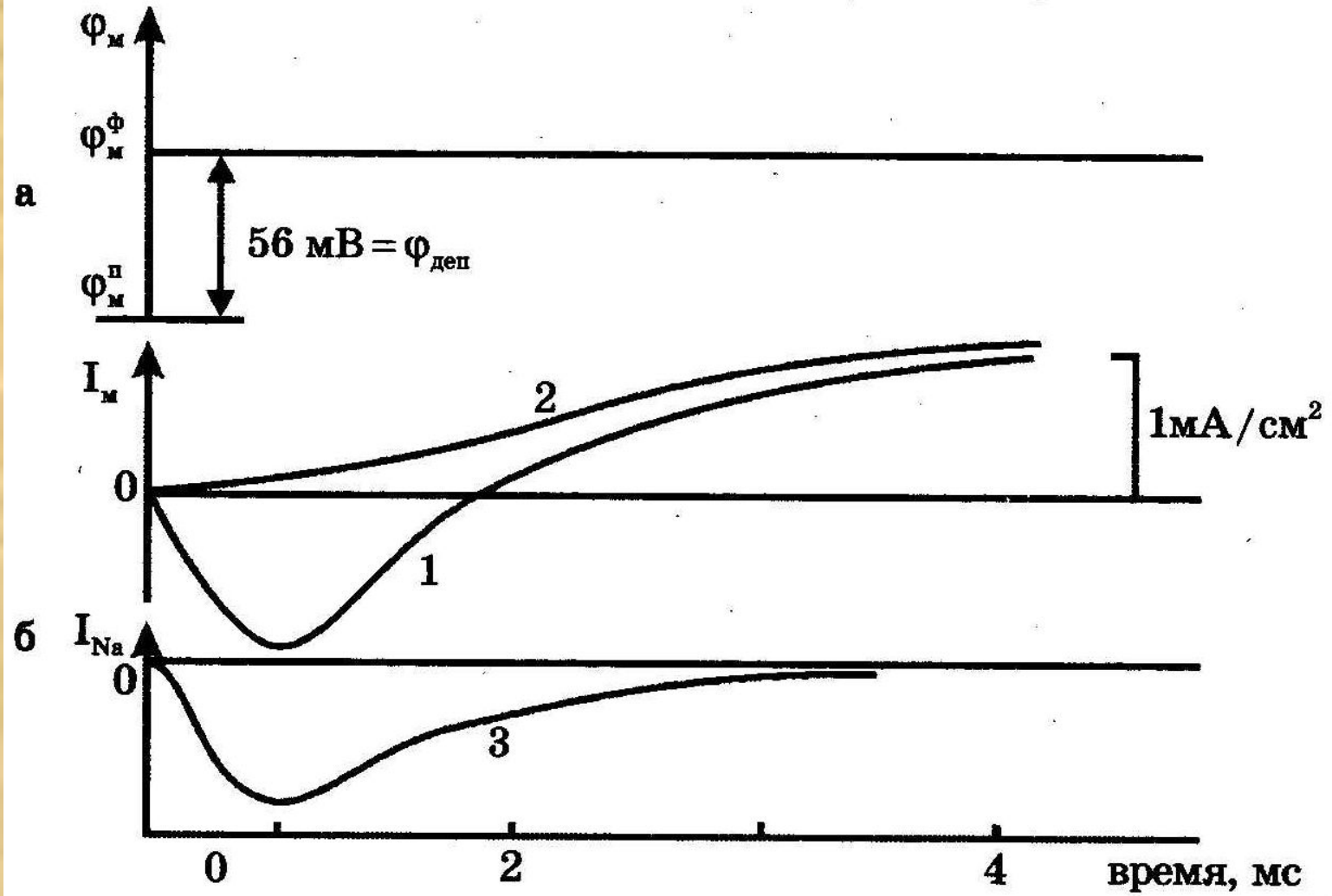
$$\lambda = \sqrt{\frac{r_m \delta a}{2r_i}}$$



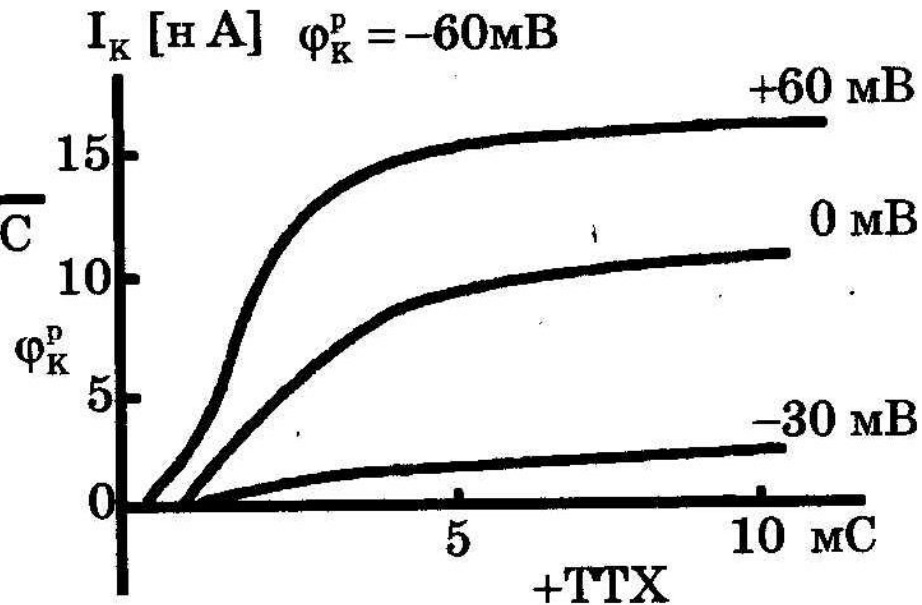
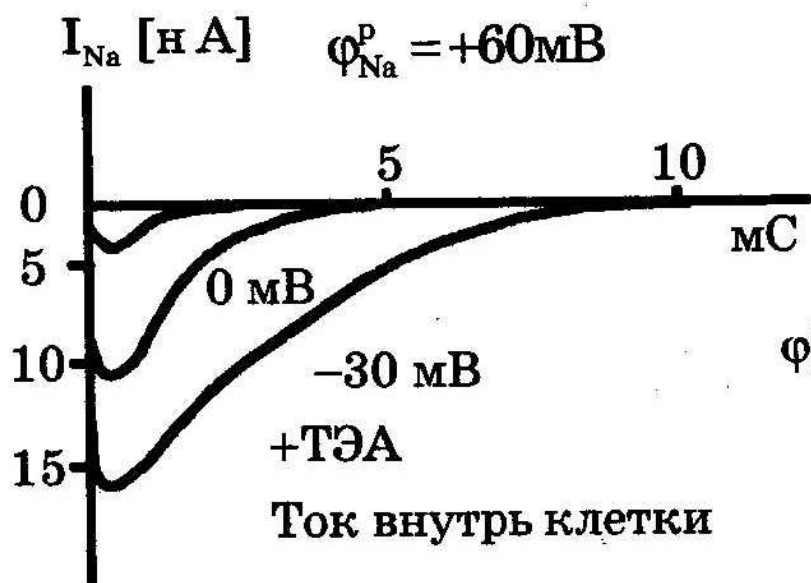


# Сальтаторное распространение ПД по миелинизированному волокну

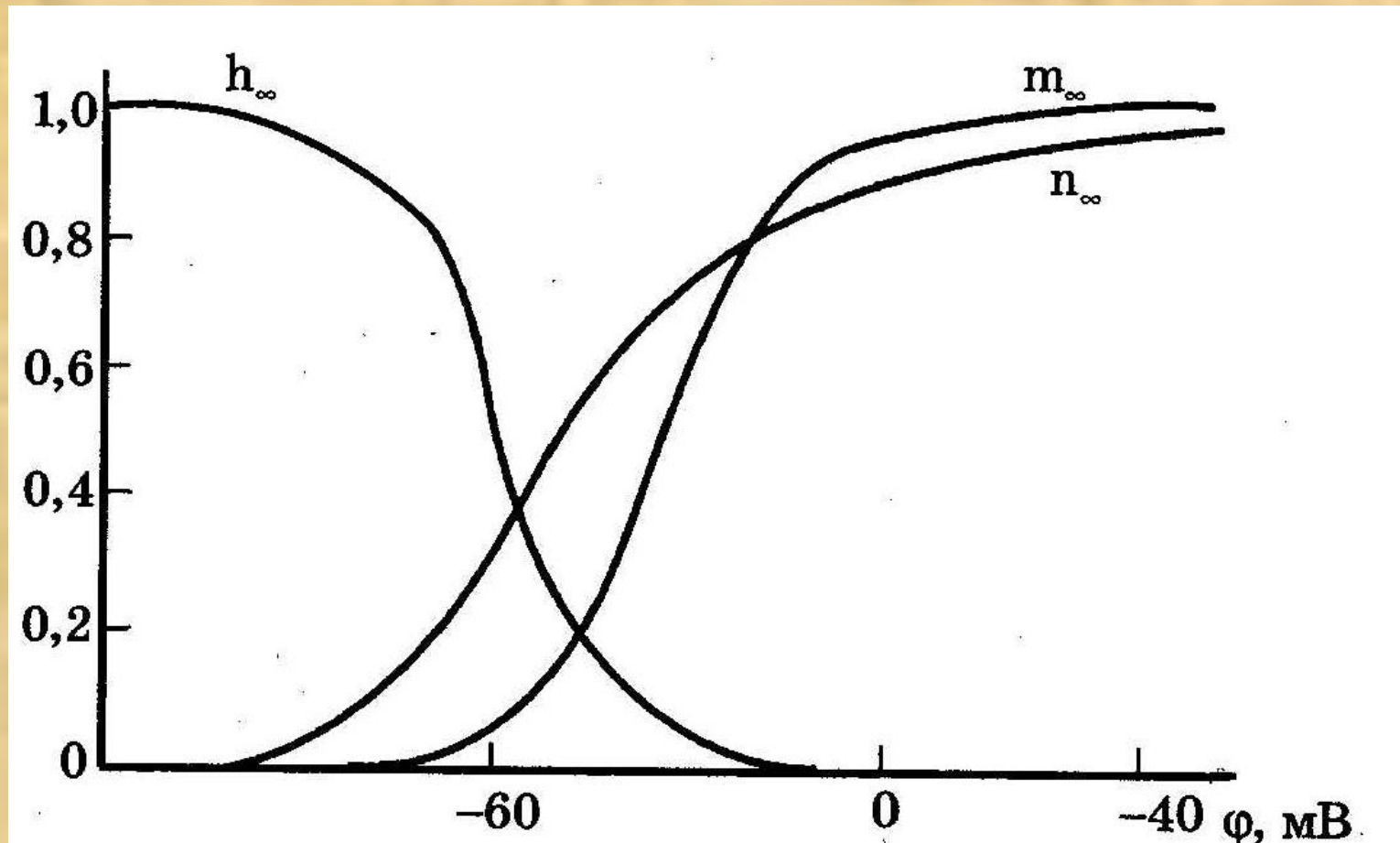




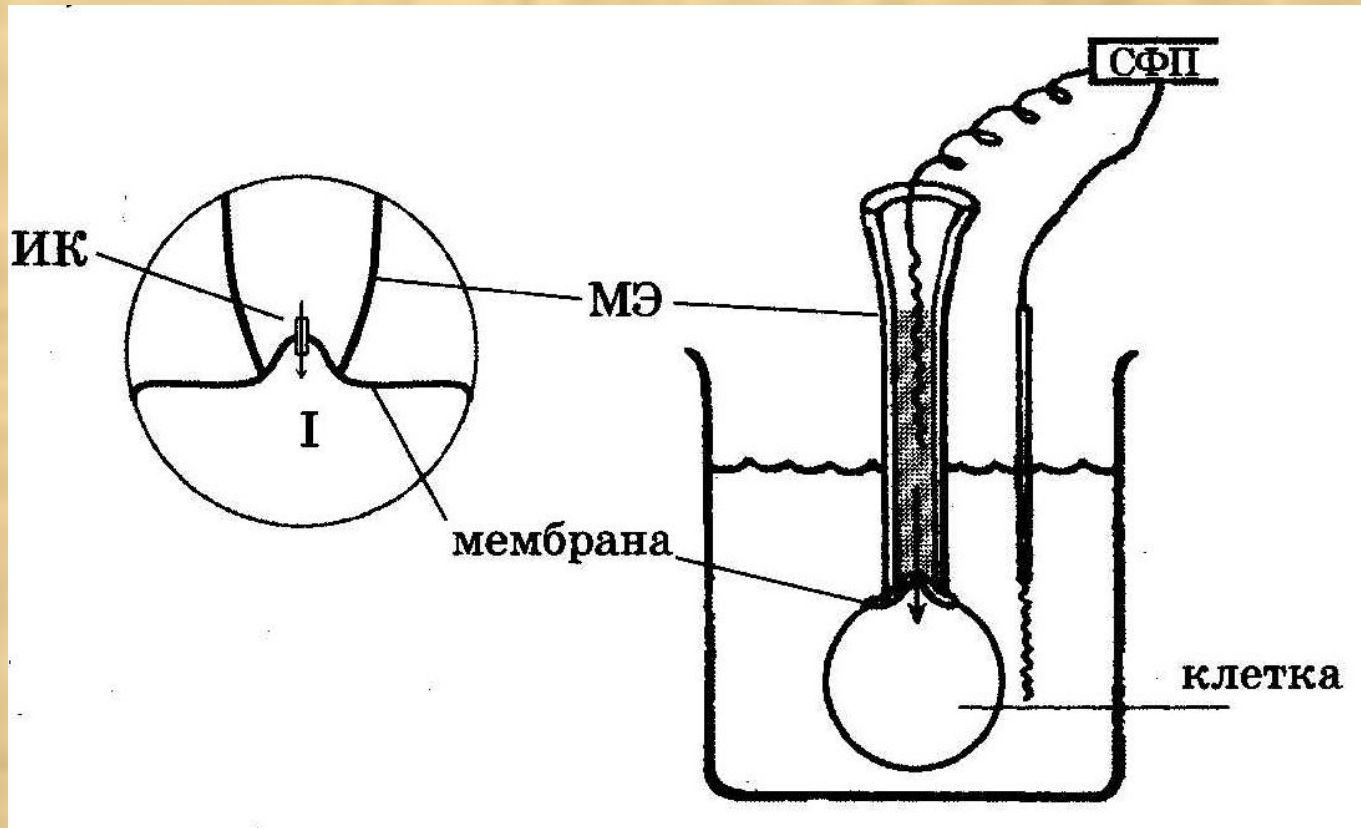
# Натриевый и калиевый токи через мембрану миелинизированного аксона лягушки



# Зависимость стационарных значений параметров Na-канала от мембранного потенциала



# Дискретный характер проводимости ионных каналов

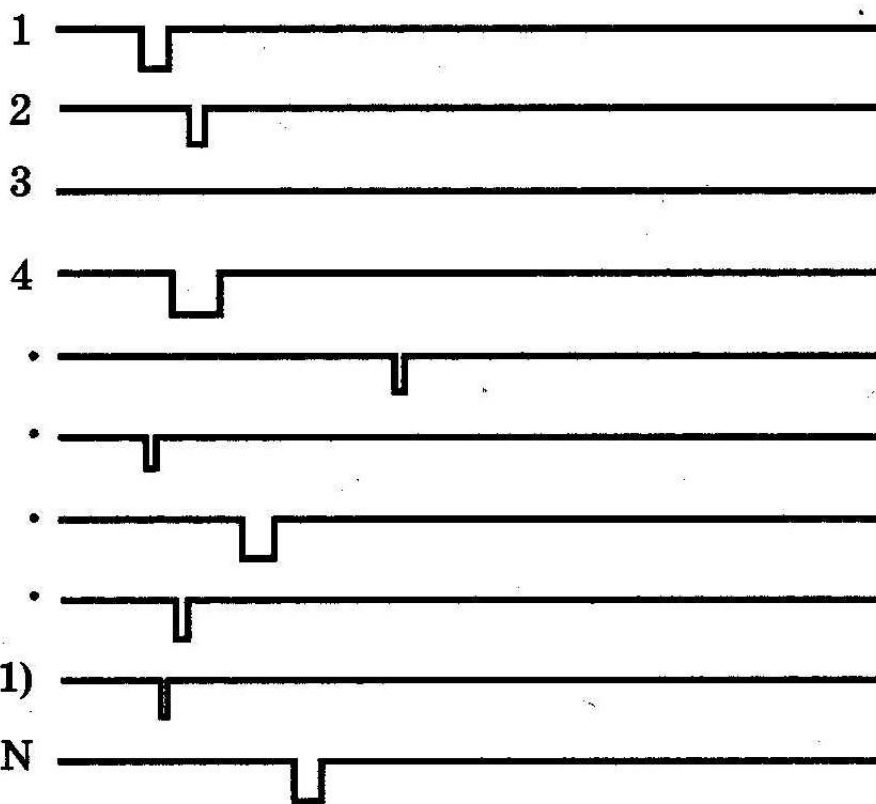


$\phi_m^0 = -40$  мВ

$\phi_m^1 = -80$  мВ

а

Опыт



Токи  
одиначных  
каналов

б

5 пА

10 мс

$I_m$

t

в

$I_{Na}$

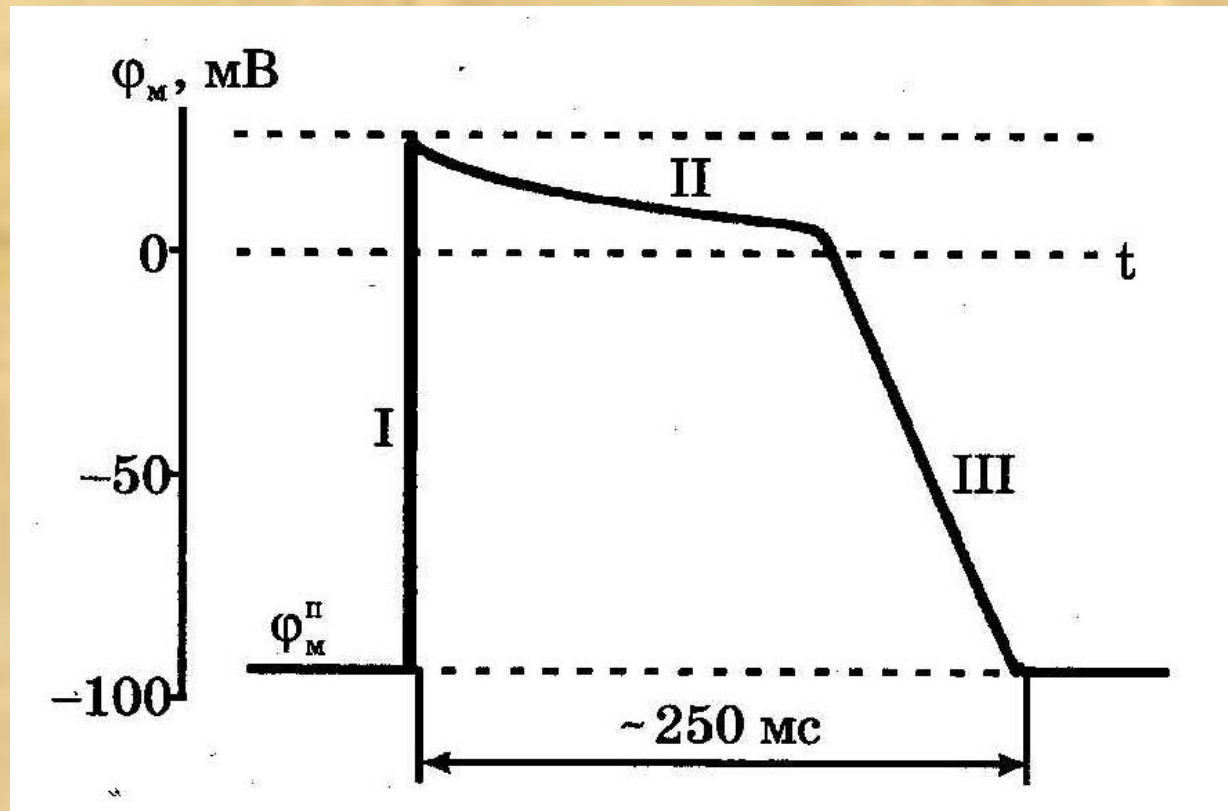
Сумма токов  
одиначных  
каналов



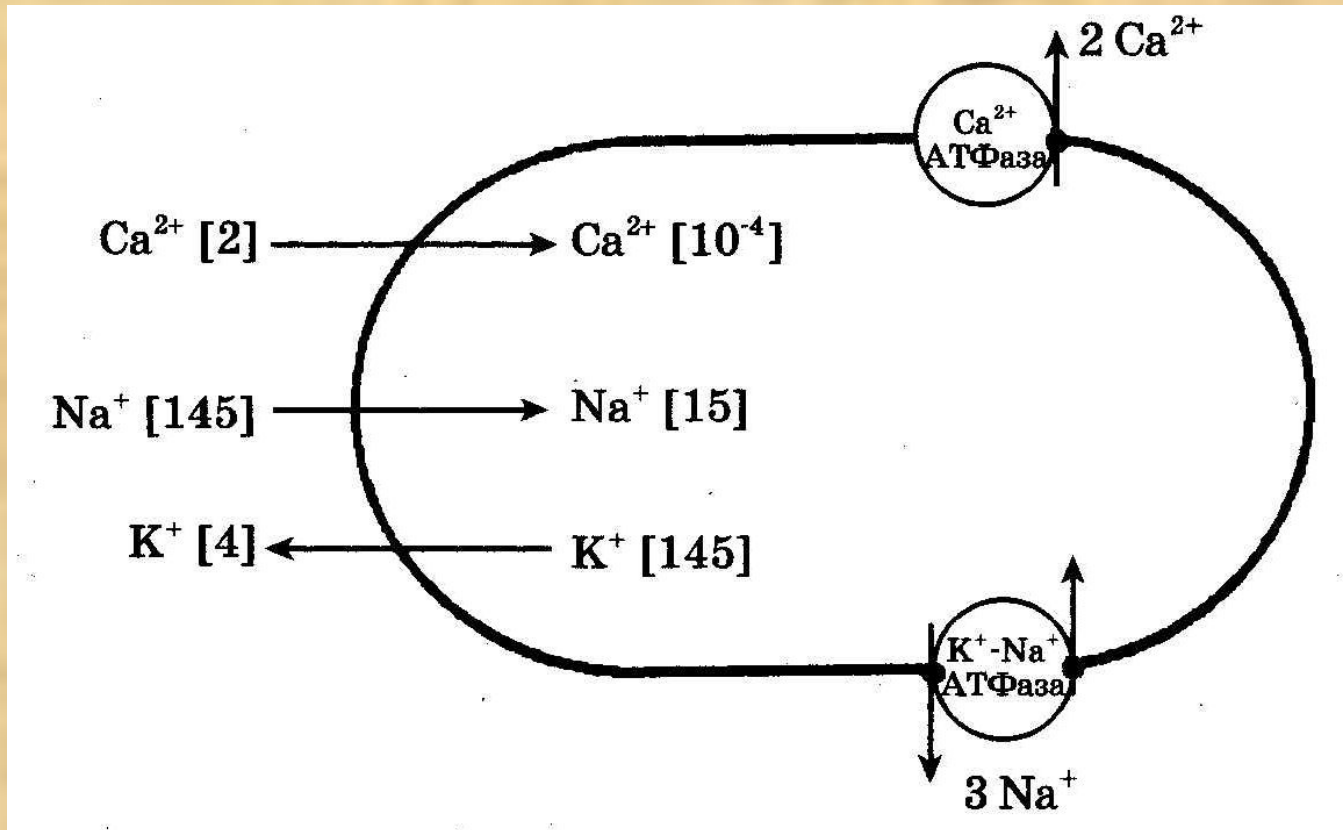
# Схема строения Na-канала



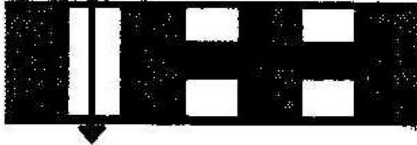
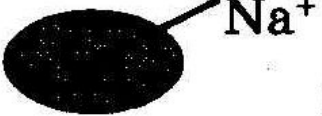
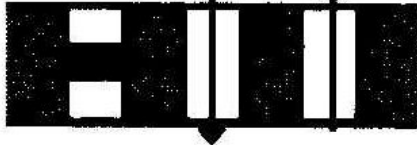
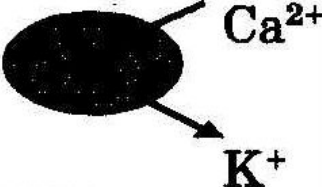
# Механизм генерации потенциала действия



# Распределение концентрации ионов внутри и снаружи кардиомиоцита позвоночных



# Процессы, происходящие при формировании ПД

Фаза	Параметры каналов	Состояние каналов	Направление токов
<p>I</p> <p><b>Деполаризация</b></p>	$T_{Na} \approx 1-2 \text{ мс}$ $\Phi_{Na}^{пор} \approx -60 \text{ мВ}$	<p>Na Ca K</p> 	
<p>II</p> <p><b>Плато</b></p>	$T_{Ca} \approx 200 \text{ мс}$ $\Phi_{Ca}^{пор} \approx -30 \text{ мВ}$	<p>Na Ca K</p> 	
<p>III</p> <p><b>Реполаризация</b></p>	$T_K \approx 50 \text{ мс}$	<p>Na Ca K</p> 