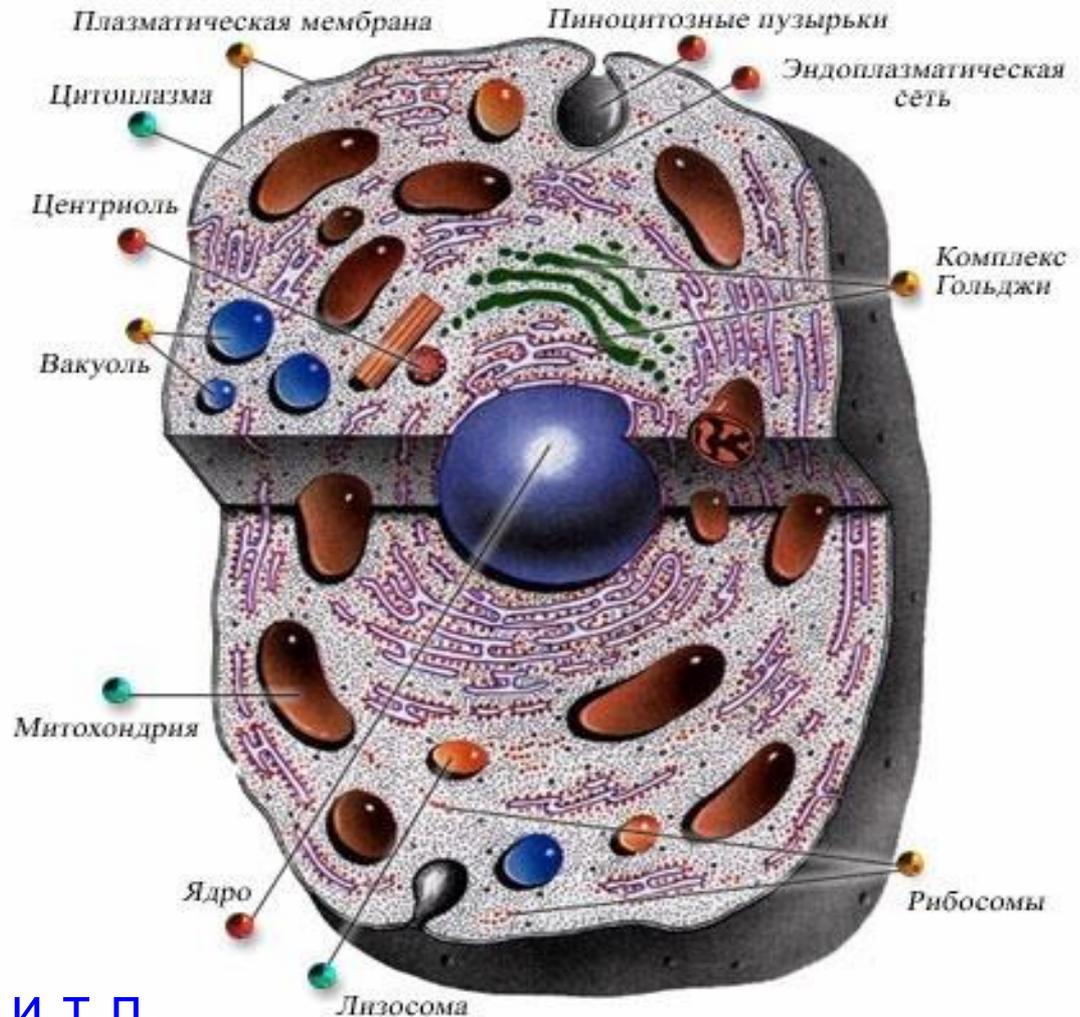


Лекция 3

Биоэлектрогенез

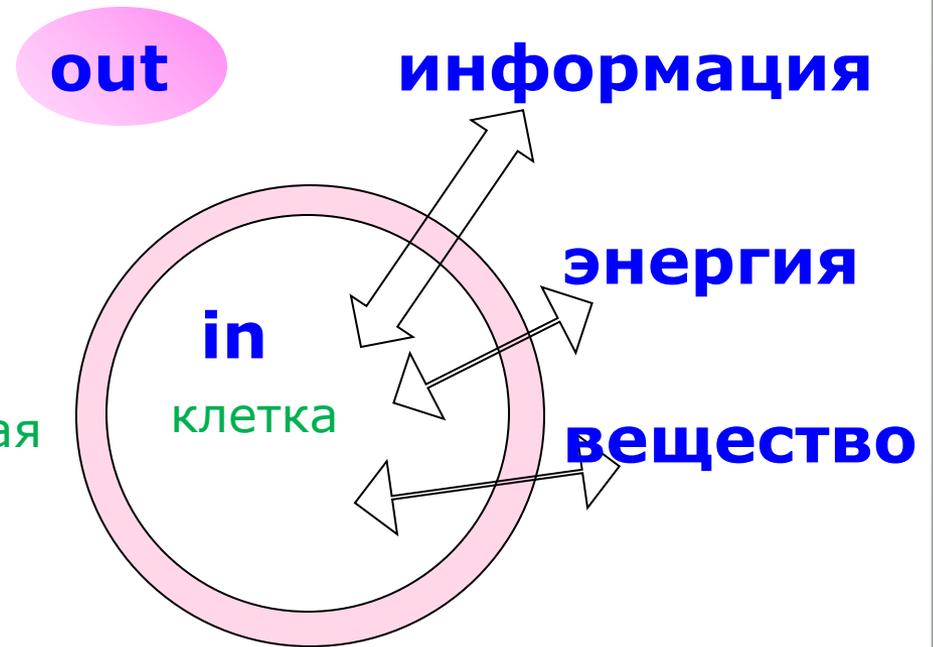
Строение и физические свойства биологических мембран

В каждой клетке есть **плазматическая мембрана**, которая ограничивает содержимое клетки от наружной среды, и **внутренние мембраны**, которые формируют различные органоиды клетки (митохондрии, лизосомы, органоиды и т.п.).



Через биологическую мембрану происходит **обмен**:

окружающая среда



Биологическая мембрана – это глико – липо - протеидный комплекс

БМ имеет толщину **6-10 нм** и видима только посредством **электронного микроскопа**.

Функции БМ

Общие

Механическая

Барьерная

Матричная

Специфические

Транспортная

Рецепторная

Генерация БП

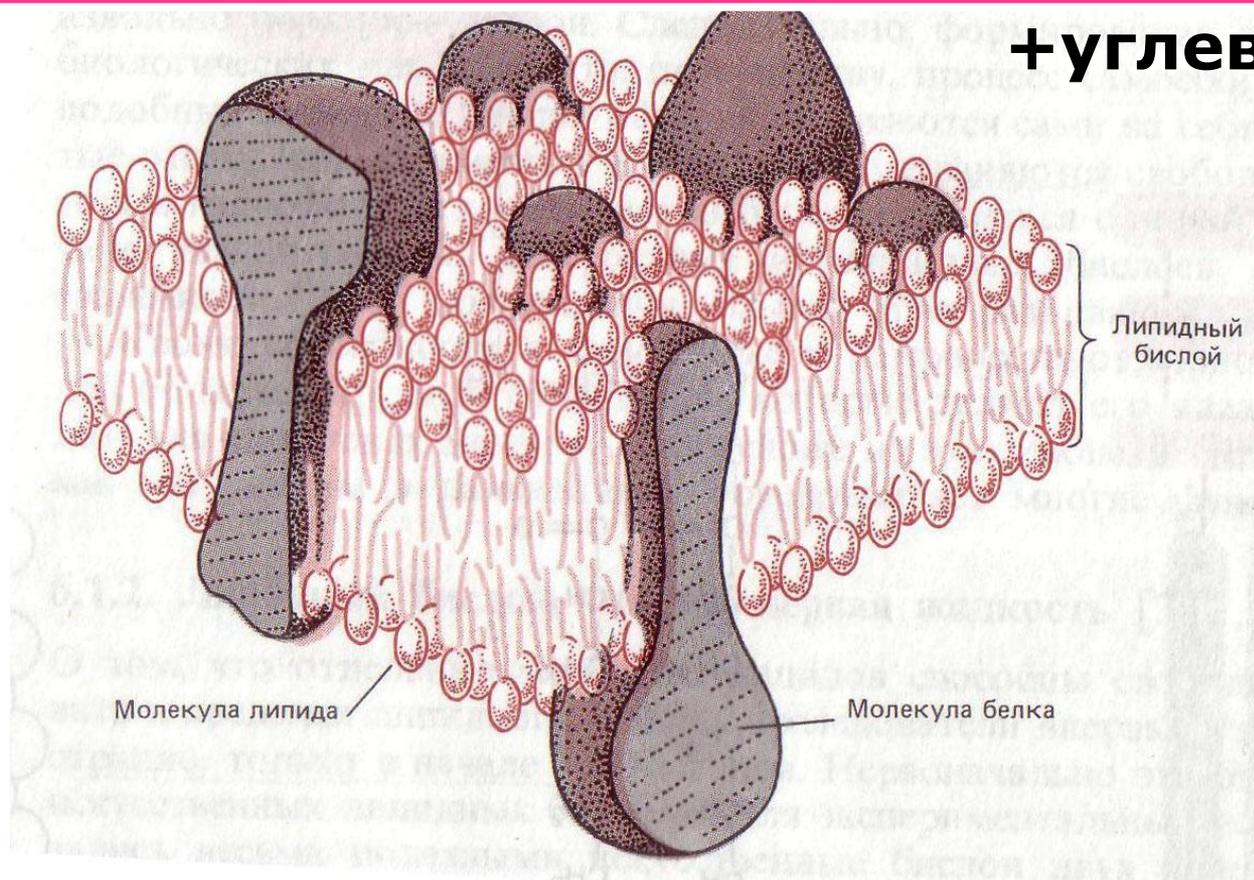
Принимает участие в **информационных** процессах в живой клетке

Строение биологических мембран

40%
БМ = липиды + белки

20-80%

+ углеводы



Из липидной части наиболее важны для структуры **фосфолипиды**.

Фосфолипиды **амфифильны** =
=амфопатические соединения.

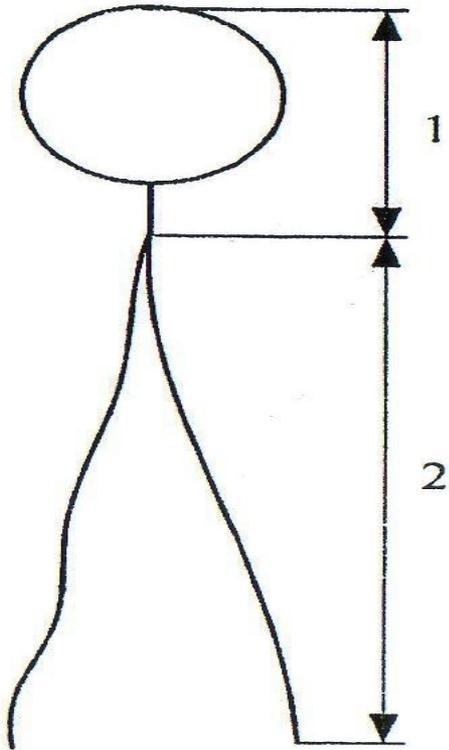
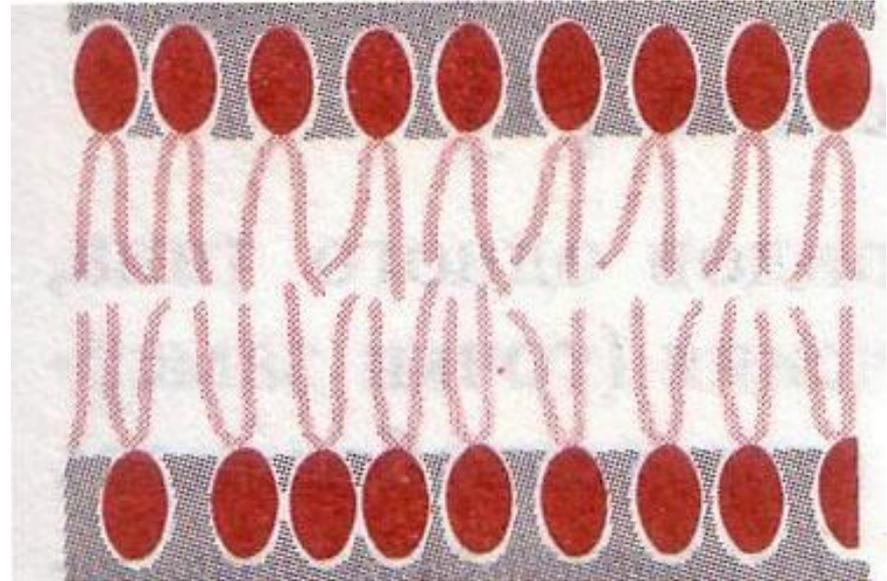
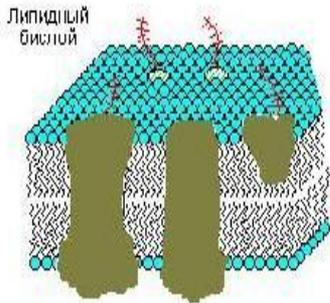


Схема фосфолипида:
1 – полярная
(гидрофильная) часть;
2 – неполярная
(гидрофобная) часть

В воде молекулы фосфолипидов
автоматически собираются в **бислой**

Бислой – это
каркас для БМ

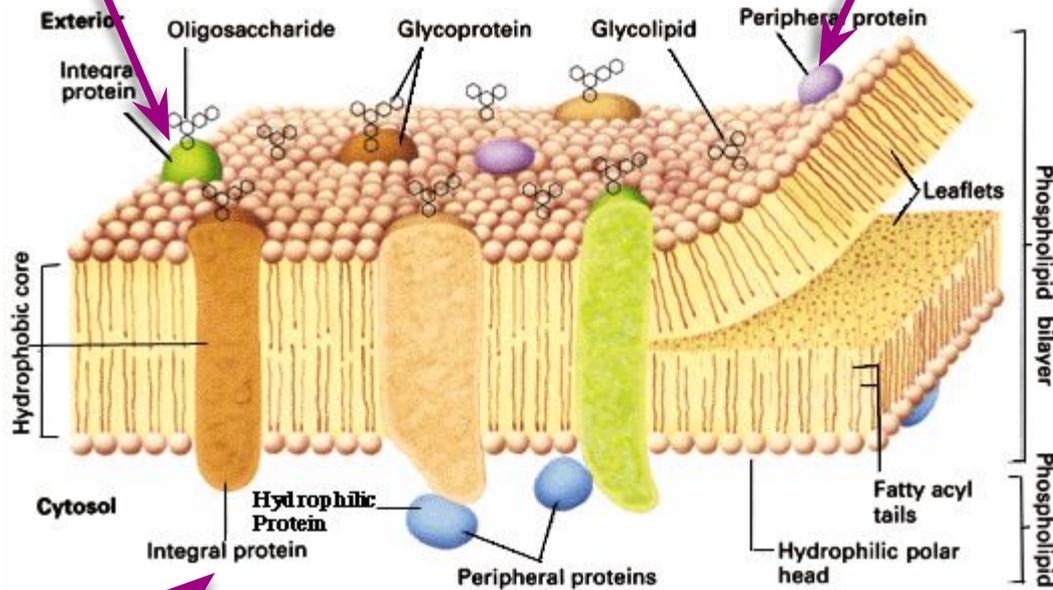


Самосборка

Самовосстановление

Интегральные белки

Периферические белки



Интегральные белки

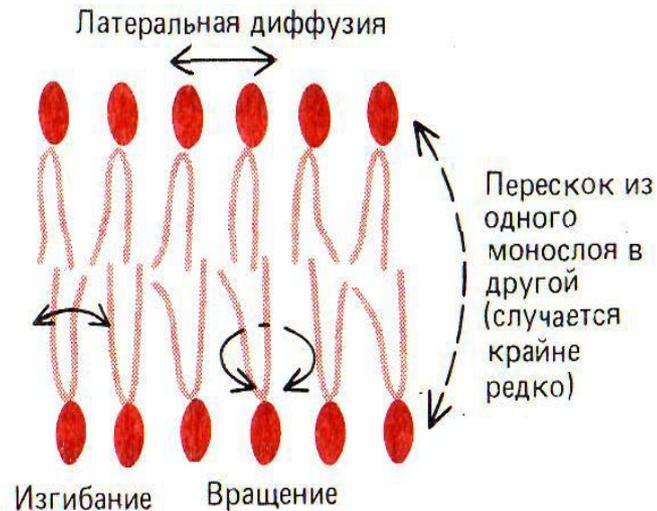
Периферические белки

Различные формы молекулярного движения в БМ

Латеральная диффузия

Трансмембранная диффузия

Перемещение молекул в пределах одной стороны бислоя.



Вращение

ФЛИП-ФЛОП=
перемещение молекул поперек БМ.

Один раз в 2 недели.

В 10^9 медленнее

Физические свойства БМ

Жидкокристаллическая структура

Вязкость
 $\eta = 100 \text{ мПа} \cdot \text{с}$
(оливковое масло)

$C = 1 \text{ мкФ/см}^2$
БМ - конденсатор

Текучность $\approx \text{const}$

Электросопротивление
 10^5 Ом/см^2
гораздо больше, чем у
технических изоляторов

Поверхностный заряд
Отрицательный.
Препятствует слипанию
клеток крови

$\epsilon_{\text{липидов}} = 2,2$

Плотность липидного
бислоя 800 кг/м^3 .
Меньше, чем у H_2O

Модуль упругости
 $E = 10^9 \text{ Па}$

Жидкокристаллическая структура (ЖК)

транспорт

скелет

Жидкий кристалл ↔ Твердый кристалл

Мембрана сохраняется в ЖК состоянии благодаря температуре клетки и химическому составу жирных кислот.

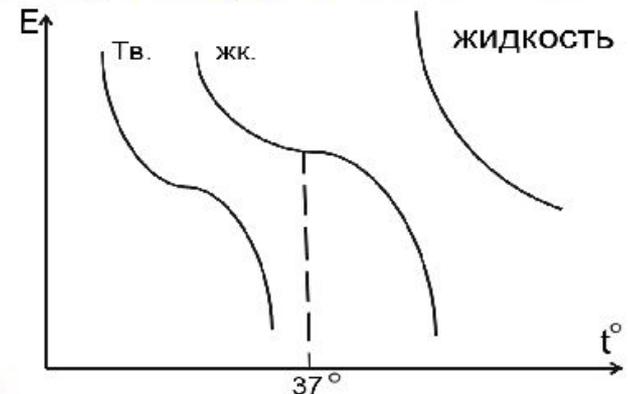
Обусловлена необычайно **высокой подвижностью** мембранных компонентов.

Фазовый переход при температуре 37° С

Ниже – твердая фаза
Выше – жидкая фаза.

Зачем изучают БМ при низкой температуре?

1. Консервирование тканей.
2. Обмораживание. Солевой шок при низкой температуре.



Модели мембран

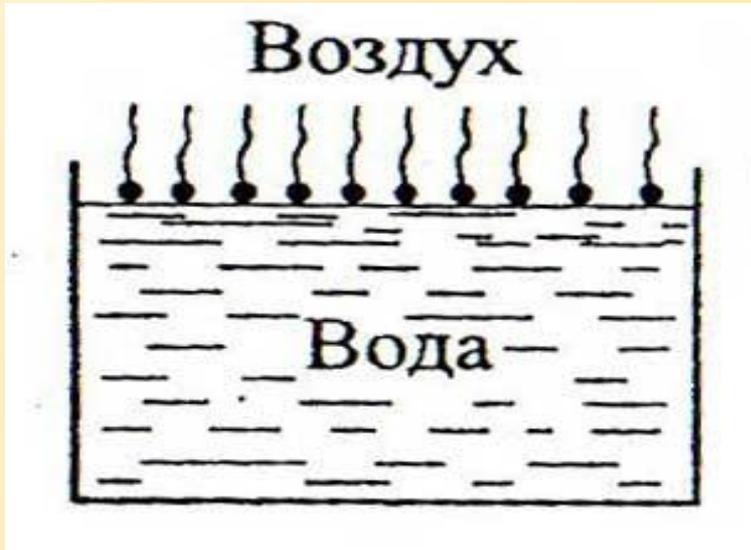
❖ Модели липидных БМ

**Моносло
и**

**Плоские
бислойные
липидные
мембраны**

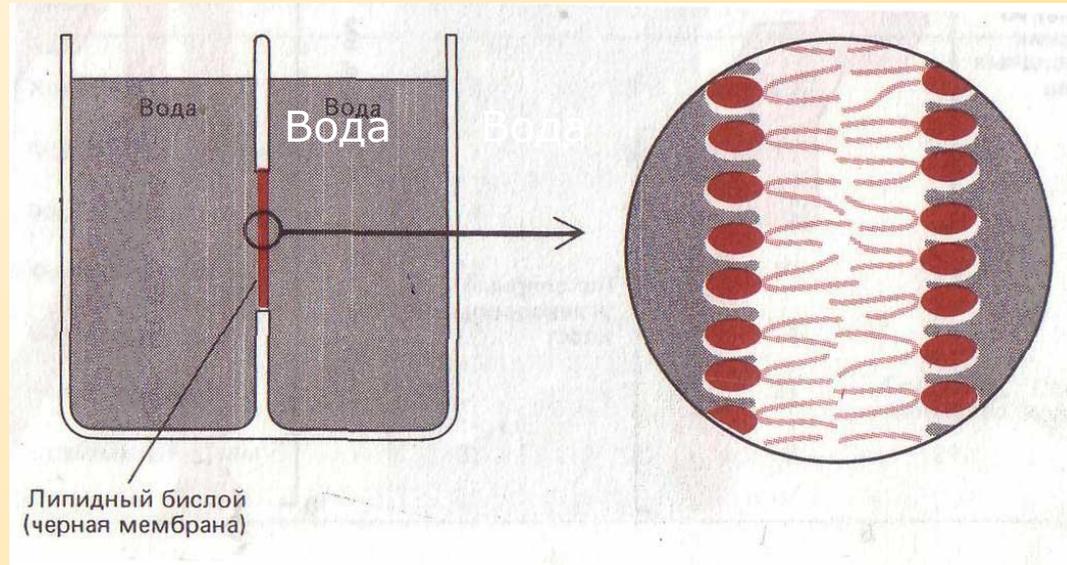
Липосомы

1. Монослои фосфолипидов на поверхности раздела вода-воздух или вода-масло



Это простейшая модель. Определяет площадь, занимаемую мембраной

2. Плоские бислоиные липидные мембраны = черная мембрана



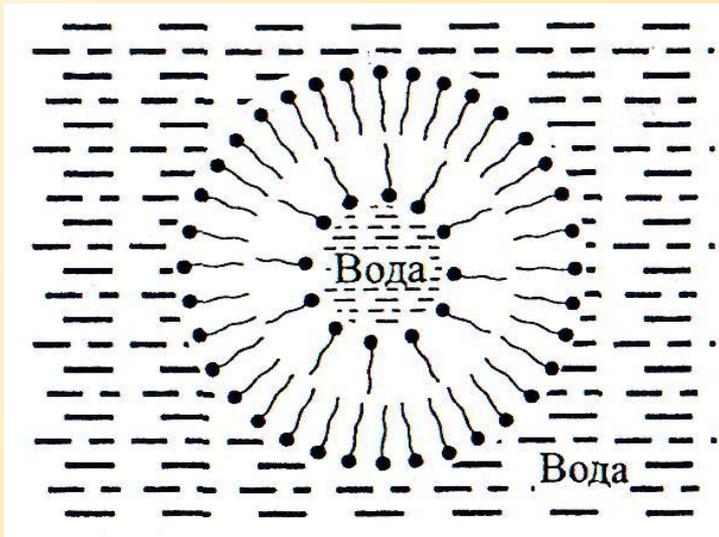
Черные мембраны используются для измерения проницаемости искусственных мембран.

Капля фосфолипида в гептане наносится на небольшое отверстие 1 мм в **тефлоновой** перегородке между двумя отделениями сосуда, заполненными **водой**. Под действием сил поверхностного натяжения образуется бислой.

3. Липосомы

(греч. lipos — жир и soma — тело),

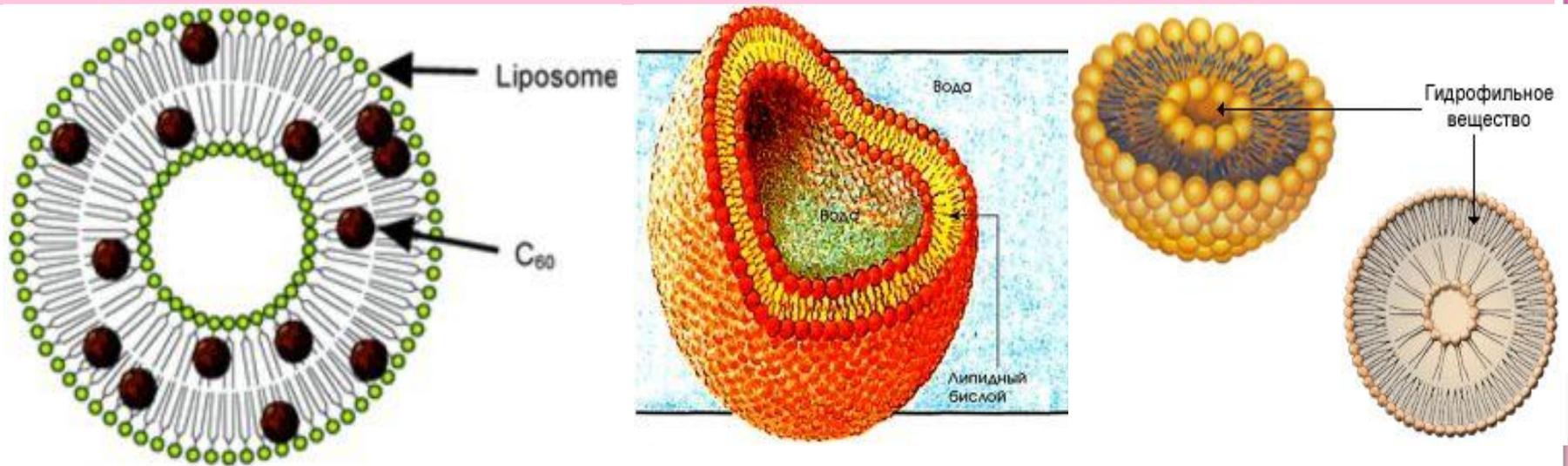
Это липидные пузырьки, получаемые встряхиванием сухих липидов в водно-солевом растворе и последующей обработке таких суспензий ультразвуком.



При этом образуются пузырьки со стенками из **липидного бислоя** толщиной 6-7,5 нм.

Диаметр липосомы от 5 до 50 мкм.

Липосомы являются идеальным «контейнером» для переноса биологических веществ, которые могут включаться как в их оболочку, так и во внутреннюю водную фазу.

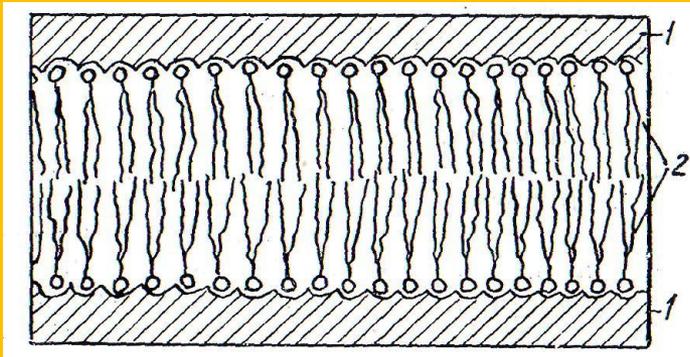


В зависимости от липидного состава и способа получения можно формировать самые различные липосомы, отличающиеся по размерам и структуре, - от **0,03 до 100 мкм**. Липосомы могут отличаться по **заряду**, что дает возможность **изменять их свойства**.

◆ Модели мембран

Бутербродная модель

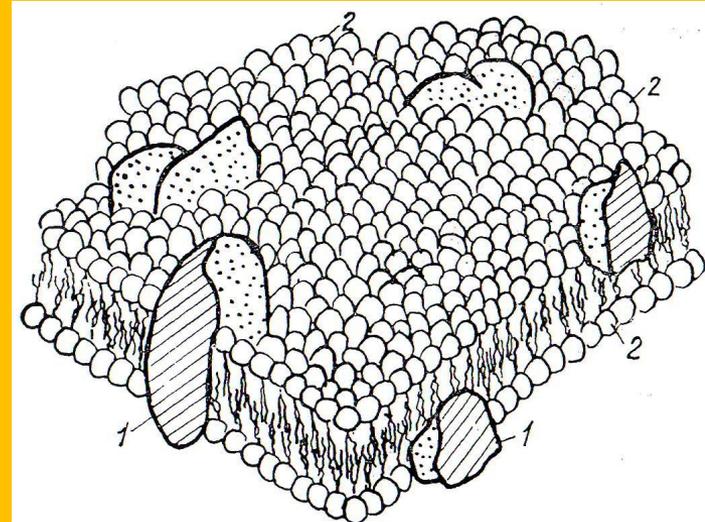
Белки приколоты сверху. **1931 г.**
Н. Девсон и Р. Даниелли.



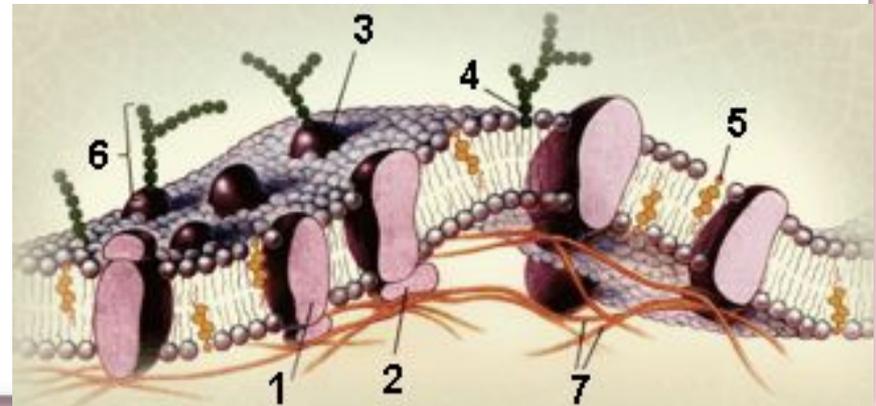
1 – белковые компоненты;
2 – фосфолипидный бислой

Жидкостно-мозаичную модель
предложили в **1972 г.**
С. Сингер и Г. **Николсон.**

Жидкостно- мозаичная модель



1 – белковые глобулы;
2 – липидное «озеро»



Диффузия в жидкости

Диффузия – это самопроизвольный процесс проникновения массы вещества из области **большей** концентрации в область с **меньшей** концентрацией в результате теплового хаотического движения молекул.



Математическое описание процесса диффузии дал **физиолог Фик (1855)**

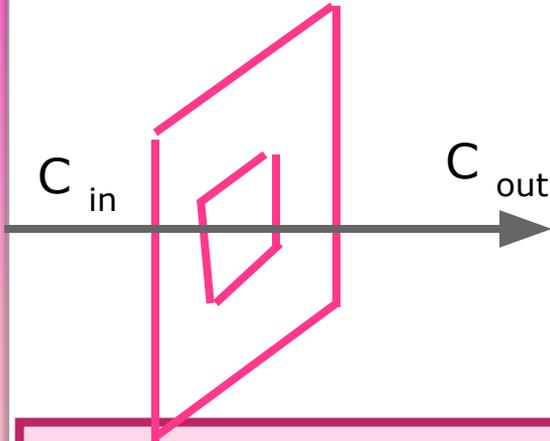
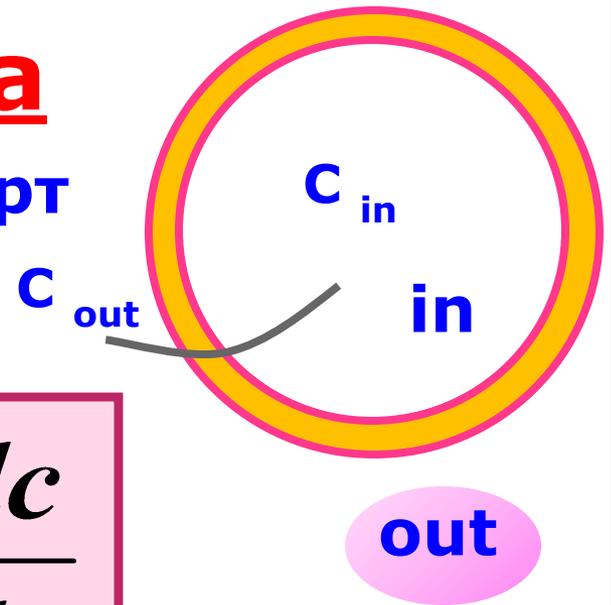


Уравнение Фика является основой конструирования ряда биотехнических систем, например, в аппарате **искусственная почка**

Уравнение Фика

описывает пассивный транспорт неэлектролитов

Почему «-»?»



$$I = -D \frac{dc}{dx}$$

$$I = -D \cdot grad C$$

I – плотность
потока
вещества через
БМ [моль/м²·с]
 D – коэффициент
диффузии [м²/с]

Плотность потока вещества через биологическую мембрану прямо пропорциональна **градиенту** концентрации

Коэффициент диффузии D зависит от природы вещества и температуры и характеризует способность вещества к диффузии.

$$D = U_m RT$$

Где U_m - **подвижность** диффундирующих молекул, выраженная для моля.

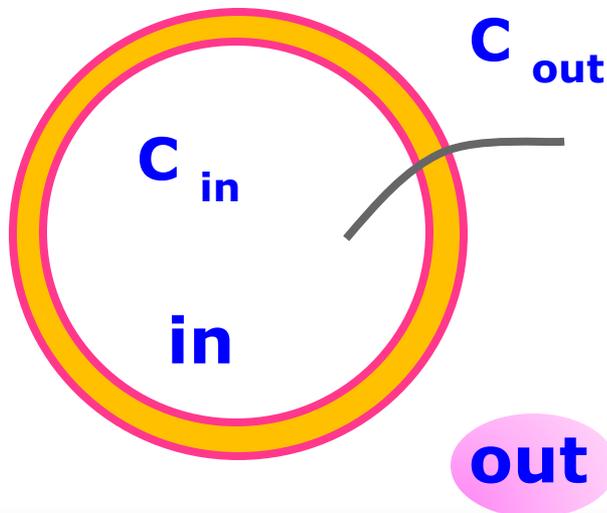
Так как **grad C** определить **трудно**, то для описания диффузии веществ через мембрану используют более простое уравнение.

Уравнение диффузии для мембран

$$I = p \cdot (C_{in} - C_{out})$$

Это более простое уравнение предложено Коллендером и Берлундом.

Где P - коэффициент проницаемости [м/с]



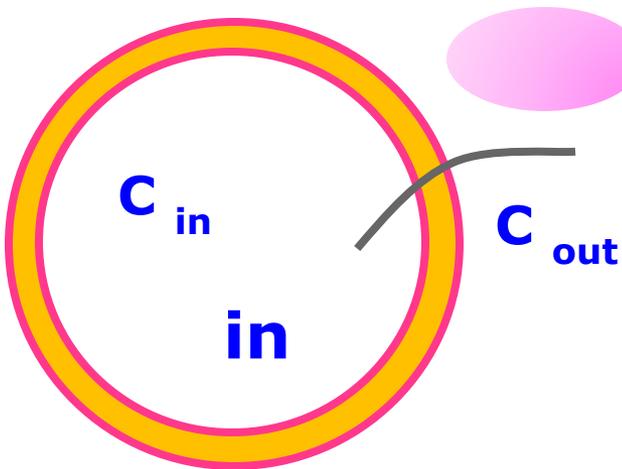
Плотность потока вещества через биологическую мембрану прямо пропорциональна **разности концентраций** внутри и снаружи клетки.

Коэффициент проницаемости

$$P = \frac{D \cdot K}{l} \left[\frac{m}{c} \right]$$

P – зависит от температуры, природы вещества, от свойств БМ, ее функционального состояния.

где l – толщина БМ
 D – коэффициент диффузии
 K – коэффициент распределения между липидной и водной фазами.



$$K = \frac{C_i}{C_M} \quad K = \frac{C_o}{C_M}$$

Нет проницаемости мембраны вообще, а есть **разная проницаемость БМ** для тех или иных веществ.

Уравнение Нернста – Планка и его выражение для мембраны

Уравнение Нернста – Планка описывает пассивный транспорт ионов

$$I = -D \frac{dc}{dx} - ZFU_m C \frac{d\varphi}{dx}$$

Z – валентность иона

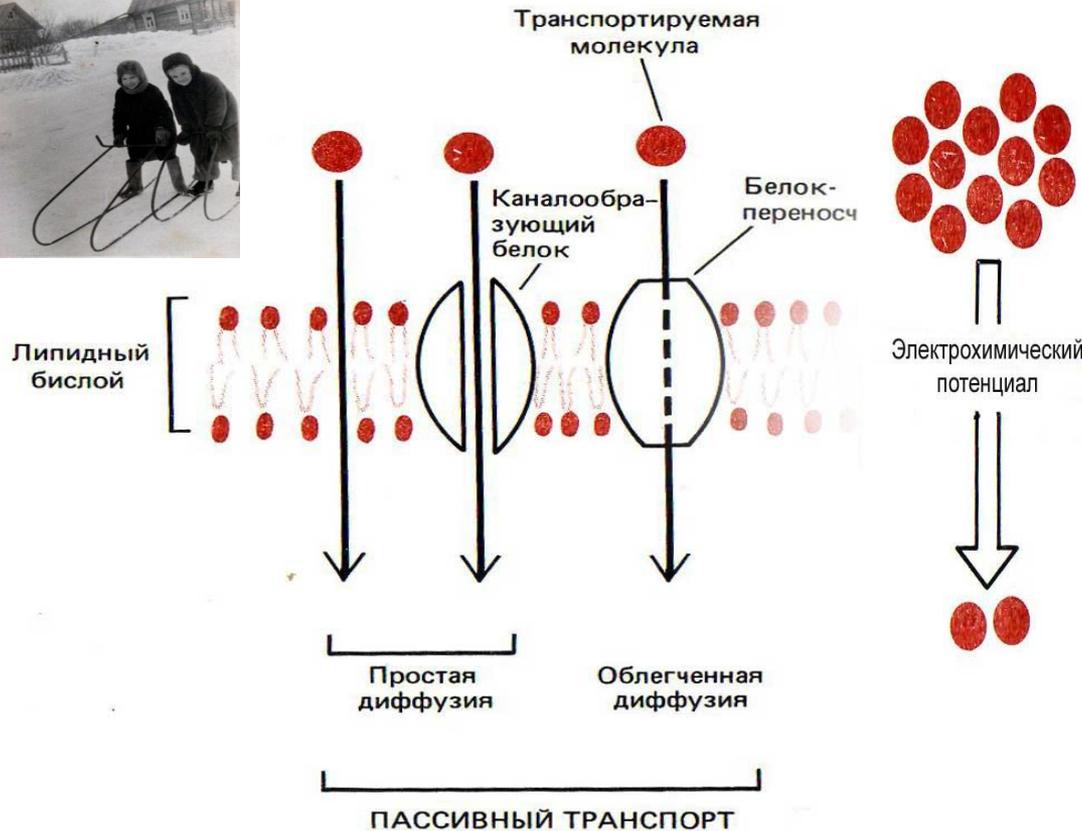
F = 96500 Кл/моль – число Фарадея

C – молярная концентрация

U_m – подвижность ионов для моля

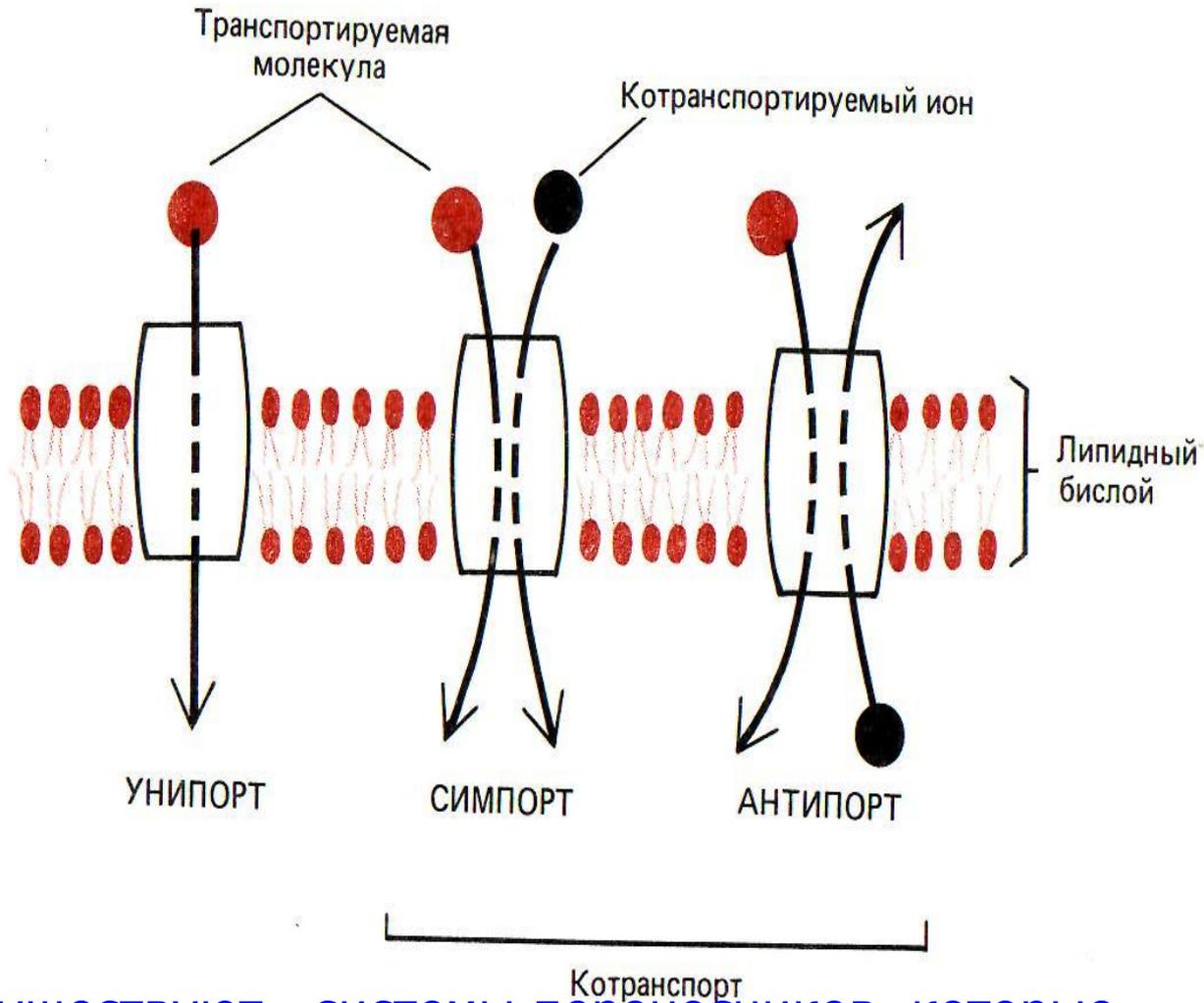
Разновидности пассивного переноса молекул и ионов через мембраны

Транспорт «под горку»



1. Простая физическая диффузия (O_2 , CO_2 , N_2 , яда, лекарства).
2. Через белок-канал (ионы).
3. Облегченная диффузия (с носителем). (АК, моносахариды, глюкоза)

Виды транспорта с носителем



Существуют системы переносчиков, которые способны транспортировать **более одного** вещества

• Понятие об активном транспорте

транспорте

Активный транспорт – это перенос веществ (ионов) через БМ, связанный с **затратой** химической **энергии** (энергия метаболизма)

из области **МЕНЬШЕГО**

электрохимического

потенциала в область

большого электрохимического

потенциала.

«в горку»



Компоненты систем **активного** транспорта:

1. Источник свободной энергии
2. Переносчик данного вещества
3. Сопрягающий фактор (Регуляторный фактор) – это различные транспортные АТФ-азы, локализованные в клеточных мембранах.

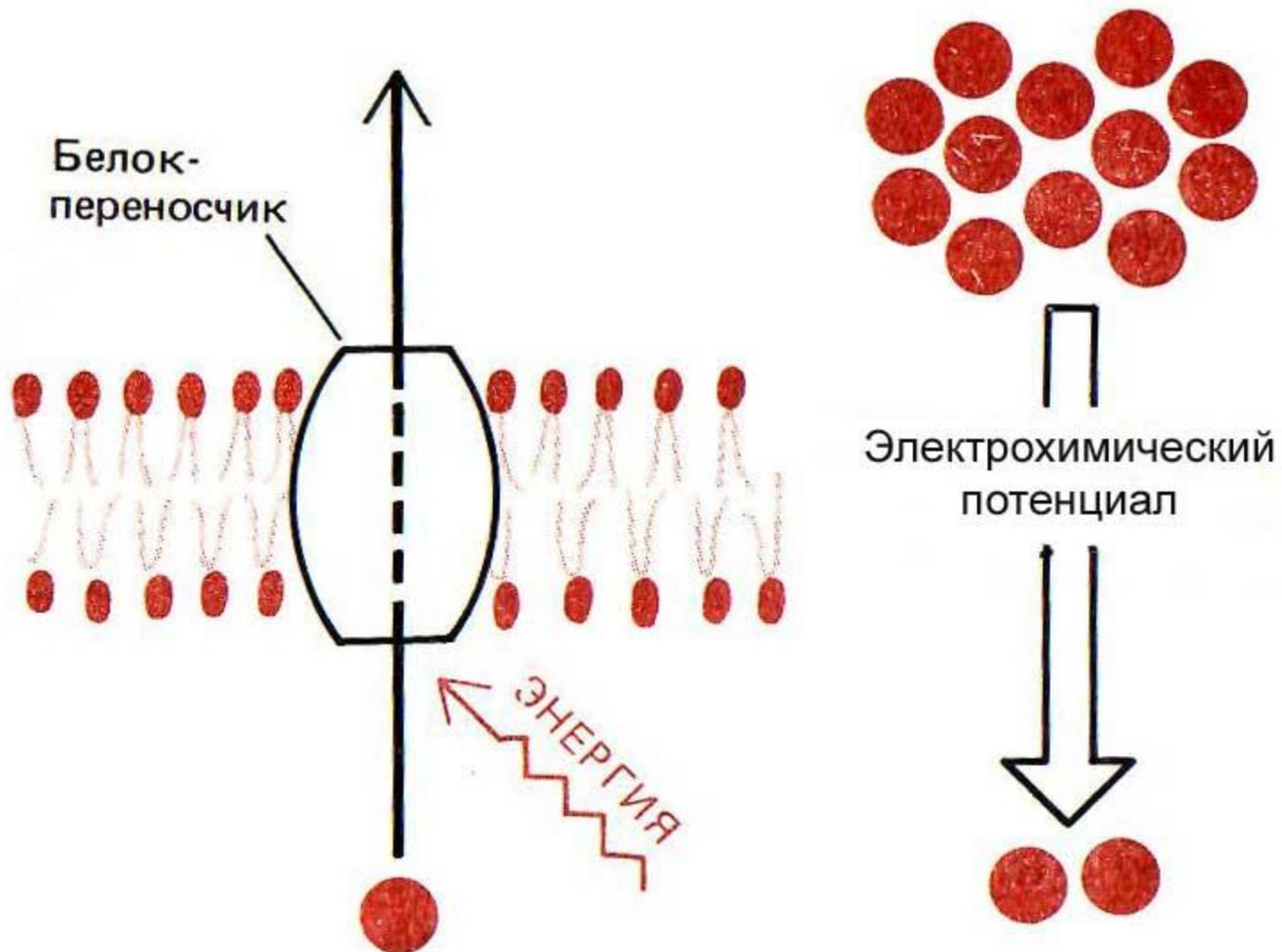
Свойства систем активного транспорта:

1. Необходимость энергетического обеспечения.
2. Специфичность – каждая система обеспечивает перенос одного вещества.

Для чего необходима система активного транспорта?

Для поддержания градиентов.

Активный транспорт



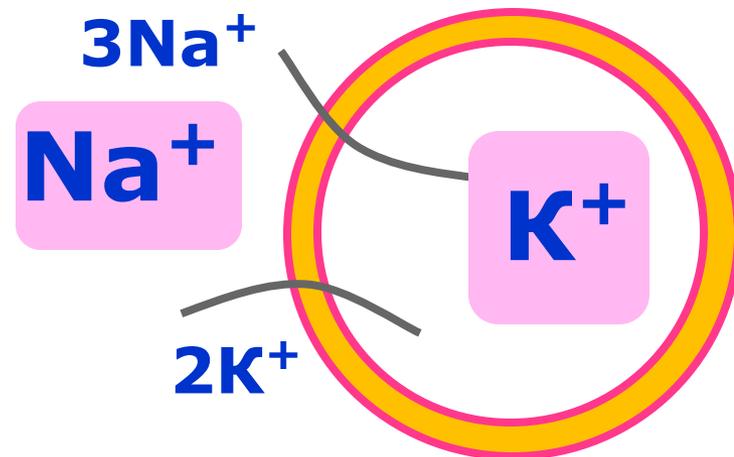
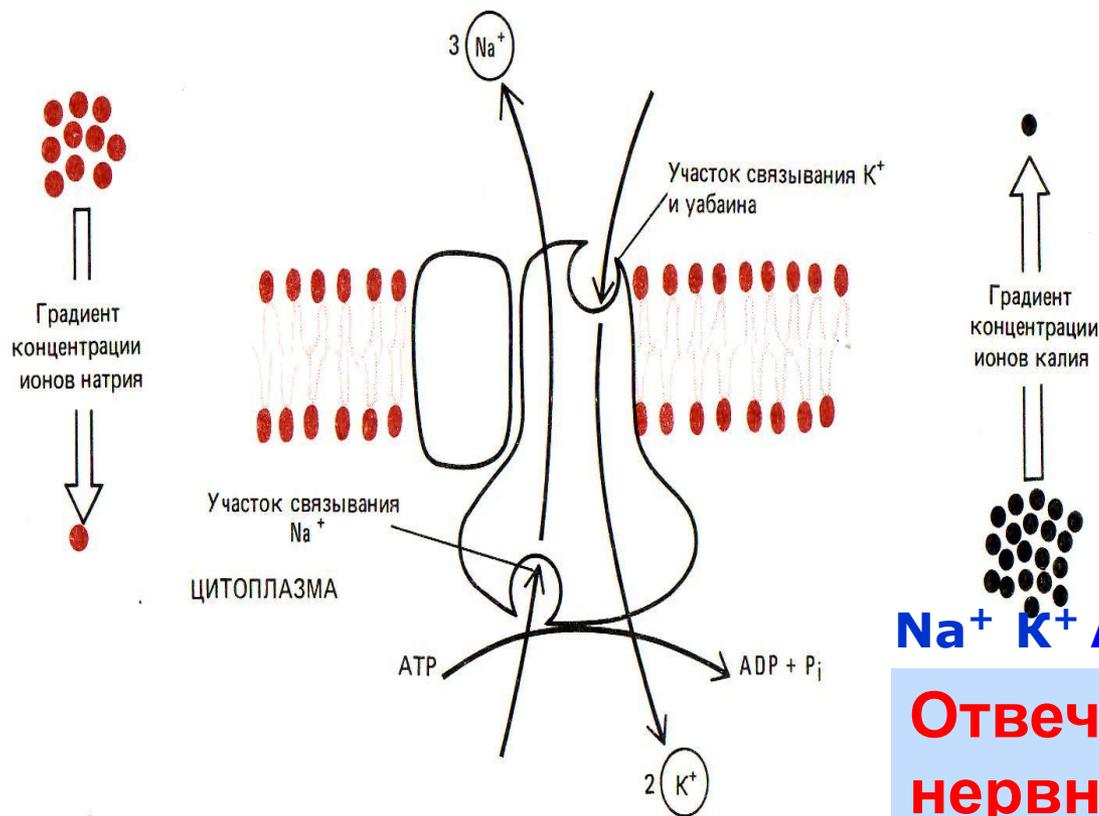
Существует несколько систем **активного** транспорта в плазматической мембране (**ионные насосы**):

- 1. Натрий – калиевый насос**
- 2. Кальциевый насос**
- 3. Протонная помпа**

• Na⁺ K⁺ насос

Натрий - калиевая АТФ-аза

Na⁺ K⁺ АТФ-аза



3 Na⁺ наружу в межклеточную жидкость, 2K⁺ внутрь клетки

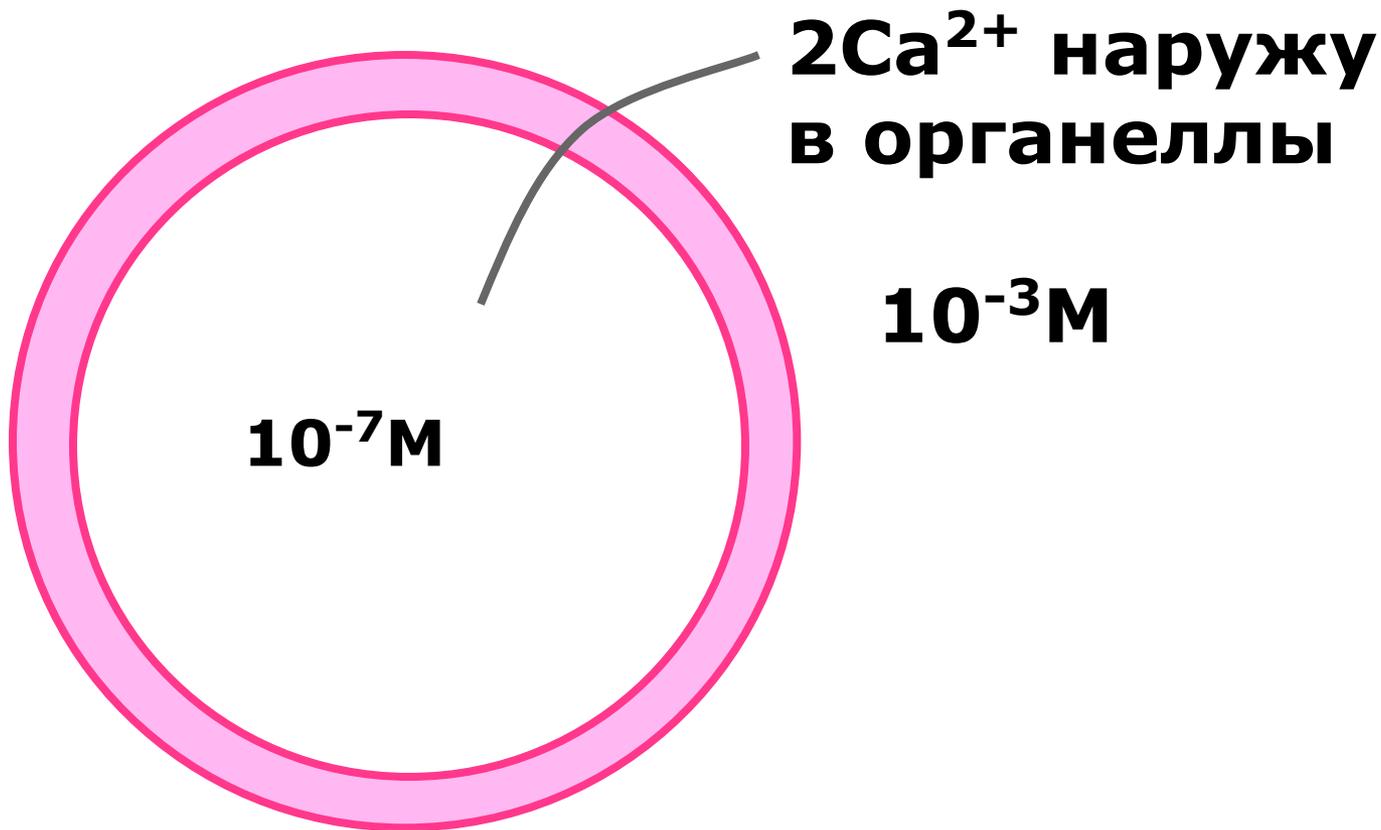
Na⁺ K⁺ АТФ-аза электрогенна

Отвечает за нервное возбуждение

• Ca²⁺ - насос

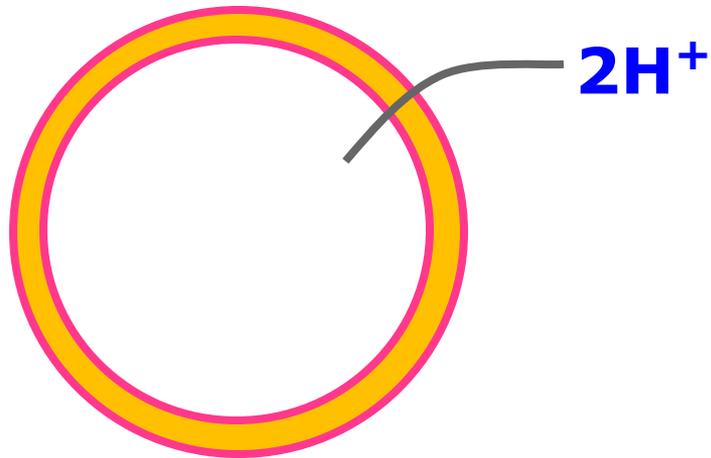
Ca²⁺ - АТФ-аза

Отвечает за расслабление. Неэлектрогенна.



• Протонная помпа

H^+ АТФ-аза



Перенос пары электронов по дыхательной цепи приводит к переносу двух протонов через БМ.

Отвечает за ЭНЕРГЕТИКУ клетки.

Биоэлектрические потенциалы

Это разность потенциалов между двумя точками живой ткани, определяющая ее биоэлектрическую активность.

БП

```
graph TD; A[БП] --> B[Мембранная природа]; A --> C[окислительно-восстановительные];
```

**Мембранная
природа**

БП, регистрируемые в организме, в основном, **мембранные**.

**окислительно-
восстановительные**

вследствие переноса электронов от одних молекул к другим.

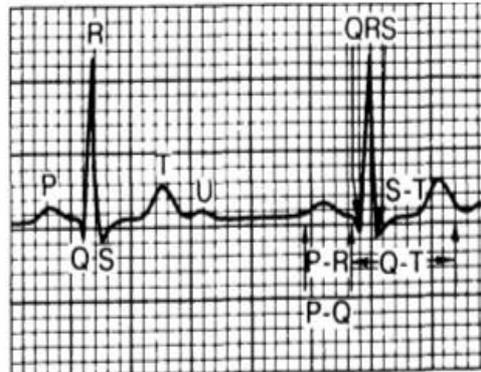
Вопрос о происхождении биопотенциалов **очень сложен**, и в настоящее время **не существует** теории, которая бы полностью все объясняла.

Генерация БП и его передача – одна из важнейших **функций биомембран**.

Генерация БП лежит в основе возбудимости клеток, регуляции внутриклеточных процессов, регуляции мышечного сокращения, работы нервной системы.

Нарушения электрических процессов в клетках приводят к ряду серьезных **патологий**.

На исследовании электрических полей, созданных биопотенциалами тканей и органов, основаны **диагностические** методы: электрокардиография, электроэнцефалография и др.



Мембранные потенциалы и их ионная природа

Мембранный потенциал (φ_M) = трансмембранный потенциал – это разность потенциалов между внутренней и наружной поверхностями мембраны

$$\varphi_M = \varphi_i - \varphi_o$$

Ионная природа φ_M :

1. С - различно
2. Р- различно

C_{out}

φ_o

K^+

Na^+

out

in

K^+ В 50 раз больше

Na^+ В 10 раз меньше

C_{in}

φ_i

Биоэлектрогенез = комплекс механизмов, приводящих к генерации БП.

Два условия биоэлектрогенеза:

1. Неодинаковая концентрация ионов по обе стороны мембраны. $\text{grad } C$
2. Неодинаковая проницаемость мембраны для анионов и катионов, на которые диссоциируют электролиты в живых тканях.

Потенциал покоя

ПП – это разность потенциалов между цитоплазмой и окружающей средой в нормально функционирующей невозбужденной клетке.

ПП- это **неизменяемый во времени** мембранный потенциал φ_M , при котором суммарный ток ионов через мембрану равен нулю, причем мембрана находится в невозбужденном состоянии.

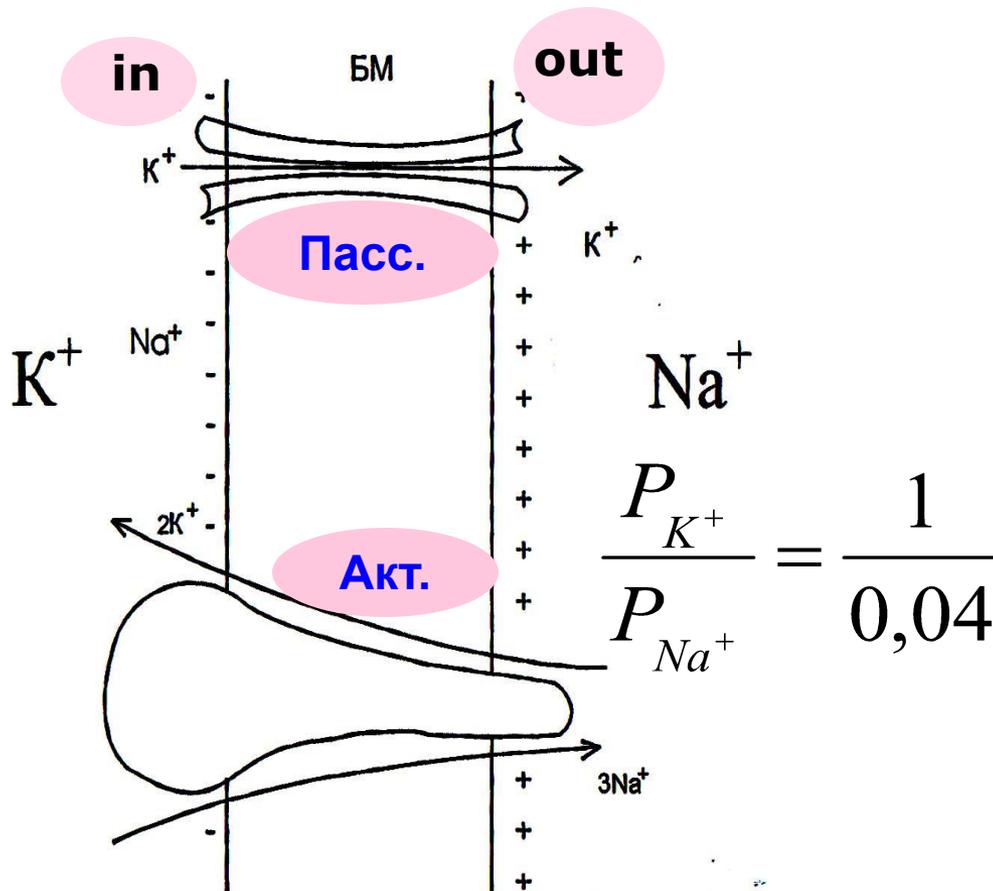
Причина ПП

1. **Разная концентрация ионов K^+ по разные стороны мембраны**

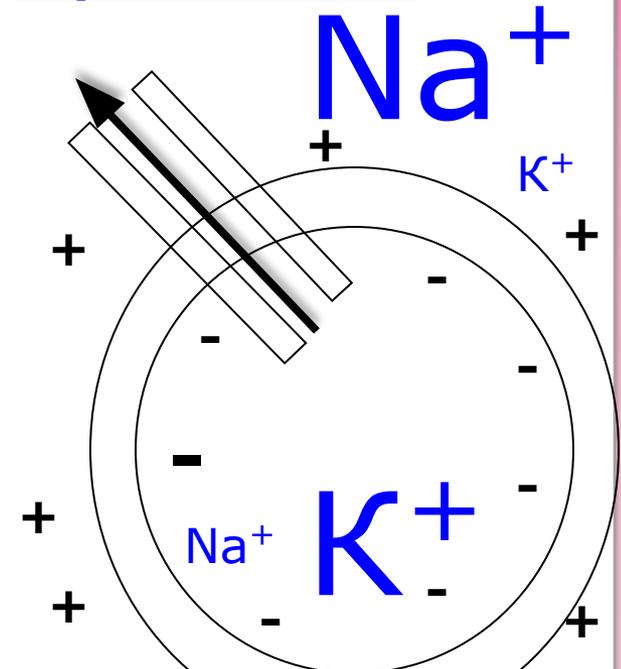
2. **Неодинаковая скорость диффузии через БМ K^+ и анионов высокомолекулярных органических вещества, находящихся в цитозоле.**

Механизм формирования потенциала покоя ПП, в основном, калиевый диффузионный потенциал.

ПП = -90 мВ



Внутренняя
поверхность клетки
заряжена
отрицательно!



Активный транспорт поддерживает gradC

мембрана поляризована

Уравнение Нернста

$$\varphi_m = - \frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_{in}}{C_{out}}$$

Это уравнение для равновесного мембранного потенциала

R- универсальная газовая постоянная,
T – термодинамическая температура,
C – молярная концентрация,
F – число Фарадея 96500 Кл/моль,
Z – валентность.

В основном,
концентрация
ионов **калия**

Теория Бернштейна
(1902):

ПП обусловлен
проницаемостью БМ
для ионов **калия**
и на ней создается
потенциал,
описываемый
уравнением Нернста.

Равновесные калиевые потенциалы, рассчитанные по уравнению Нернста, близки к измеряемым величинам.

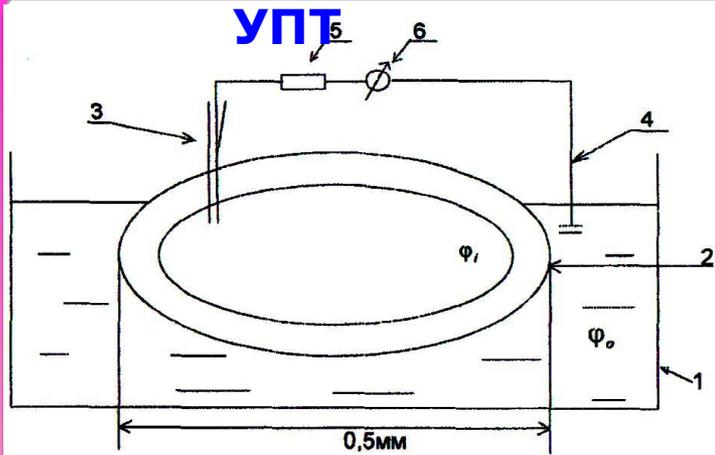
Уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца

Учитывает вклад в значение биопотенциала также и других ионов.

Это уравнение для стационарного мембранного потенциала, при котором суммарный ток ионов через мембрану равен нулю.

$$\varphi_M = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{P_{K^+} [K^+]_i + P_{Na^+} [Na^+]_i + P_{Cl^-} [Cl^-]_o}{P_{K^+} [K^+]_o + P_{Na^+} [Na^+]_o + P_{Cl^-} [Cl^-]_i}$$

R- универсальная газовая постоянная,
P- проницаемость мембраны, Z – валентность,
T – термодинамическая температура,
F-число Фарадея 96500 Кл/моль



Микроэлектрод: Стеклянная пипетка с оттянутым кончиком диаметром **0,5 мкм**. Внутри серебряная проволока AgCl и раствор KCl или NaCl. Подвижность ионов K^+ и Cl^- **одинакова** и **не вносит дополнительной** разности потенциалов. 2-й электрод – электрод сравнения.

УПТ – усилитель постоянного тока.

Объект исследования: *гигантский аксон кальмара*.

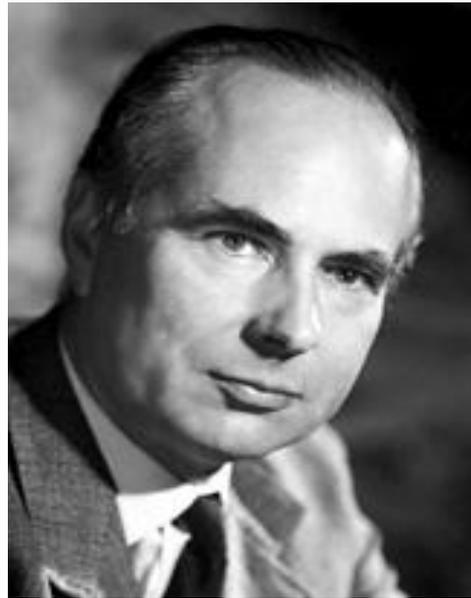
Диаметр от 0,5 до 2 мм. Это в **100-1000** раз больше, чем у человека.



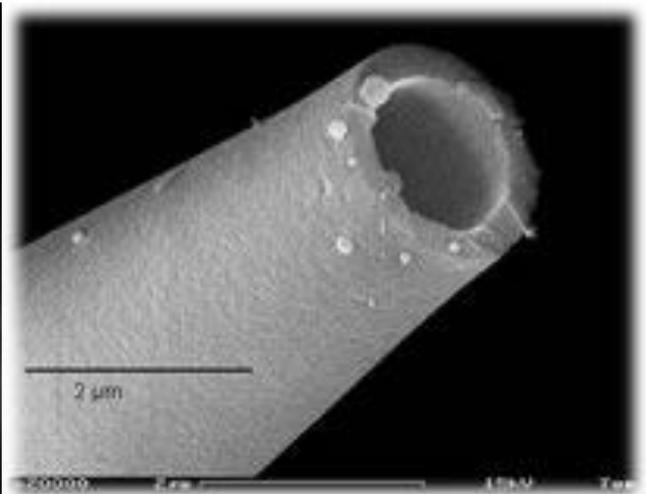
Любимая модель в биофизике



Ходжкин Алан
Ллойд



Англ. физиолог
Хаксли Эндрю



Микропипетка



1963г.



На мониторе - клетка

Механизм генерации и распространения потенциала действия

Потенциал действия (ПД)- это изменение мембранного потенциала при возбуждении нервных клеток, напоминающее затухающее колебание.

ПД - это электрический импульс, обусловленный изменением ионной проницаемости БМ и связанный с распространением по нервам и мышцам волны возбуждения.

Основные положения мембранной теории возбуждения сформулированы немецким нейрофизиологом Ю. Бернштейном (1902)

При раздражении возбудимой клетки в её поверхностной мембране происходит молекулярная перестройка, которая приводит к изменению проницаемости мембраны и появлению трансмембранных ионных токов.

Повышается проницаемость мембраны для ионов **Na^{\pm}** , и резко **падает сопротивление** мембраны на 2-3 порядка.

Происходит кратковременное исчезновение ПП в возбуждённом участке и возникает ПД.

Возбуждённый участок БМ приобретает противоположную разность потенциалов: внутренняя сторона мембраны становится положительно заряженной по отношению к наружной.

Все живые ткани и клетки под влиянием раздражителей переходят из состояния покоя в состояние **активности**.

Основные физиологические **свойства** нервной и мышечной ткани:

Возбудимость

Это способность живой клетки **воспринимать** изменения внешней среды и

отвечать на это реакцией

Проводимость

Способность живой ткани **проводить** возбуждение

Рефрактерность

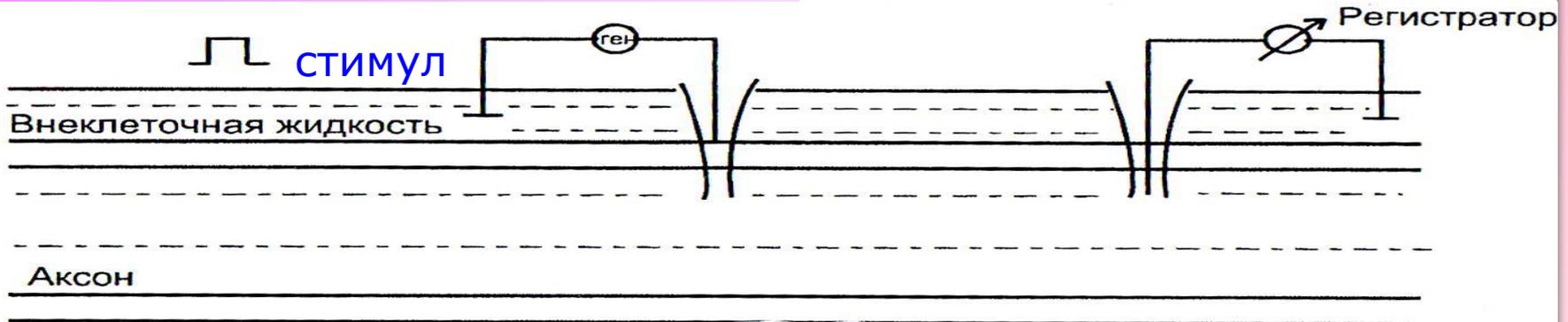
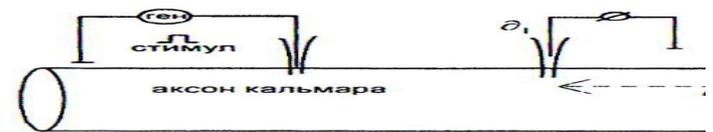
Это **временное снижение** возбудимости ткани, возникающее после ее возбуждения.

Нужен **стимул – раздражитель**. Это фактор, способный вызвать *ответную* реакцию.

В условиях физиологического эксперимента – это **электрический ток**. Причем выше порогового.

Пороговый раздражитель – это раздражитель минимальной силы, который **впервые** вызывает видимую *ответную* реакцию со стороны возбудимой ткани.

Взрыв электрической активности



Свойства ПД

Наличие **порогового**

$\varphi_{\text{Пор}}$
деполяризирующего
потенциала

Закон «**все или ничего**»

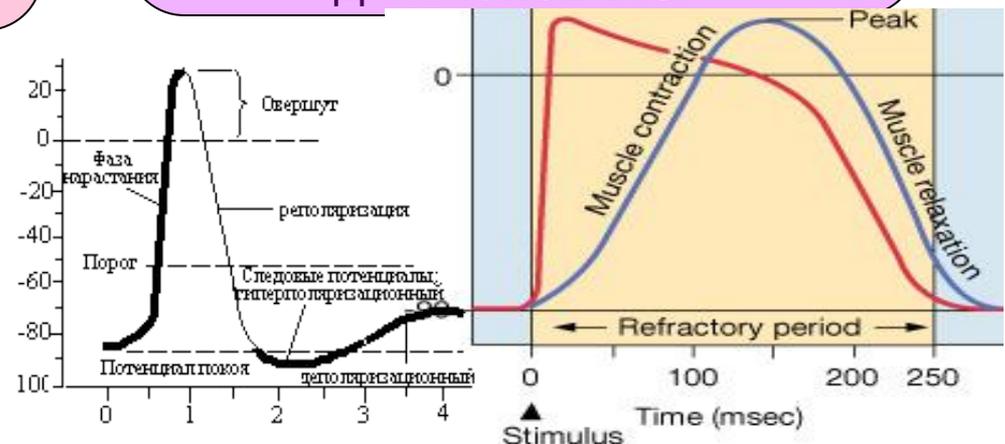
"All or none"

ПД

– это **короткий** импульс:
до 3 мс – для аксона
до 400 мс
для кардиомиоцита

Характерен период
рефрактерности
= **невозбудимости**

В момент возбуждения
резко падает
(на 3 порядка)
сопротивление **БМ**
для ионов **Na⁺**



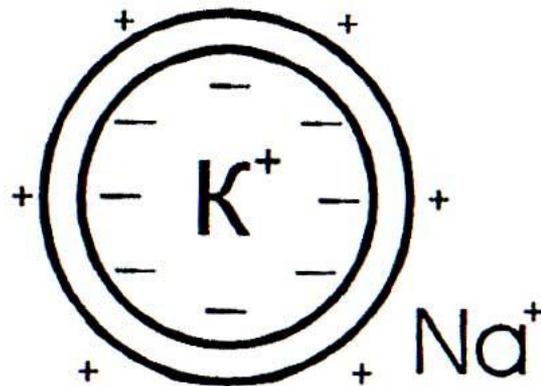
ПД разовьется, если амплитуда стимула больше порогового значения

Особенности Na⁺ каналов

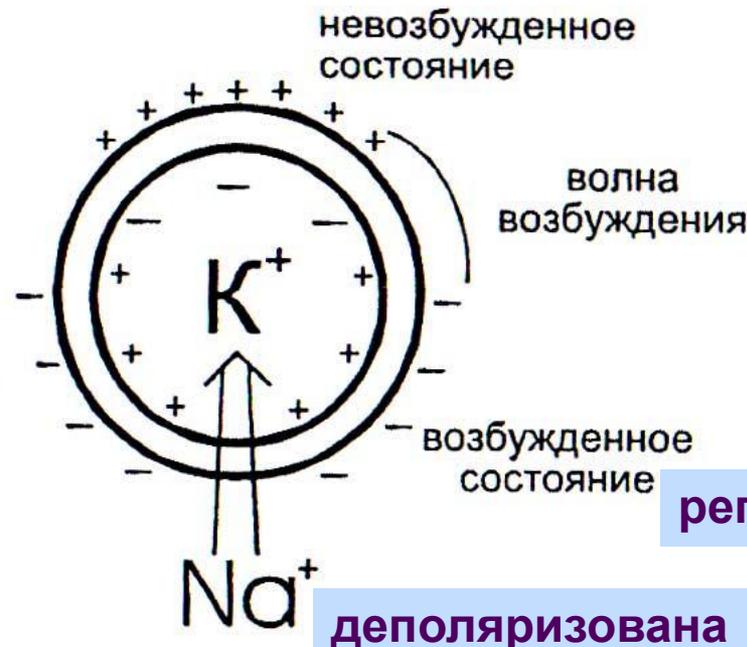
1. Потенциалозависимые: открываются лишь при возбуждении БМ
2. Открываются на **очень малый** промежуток времени от 0,1-10 мс.

На мгновение!

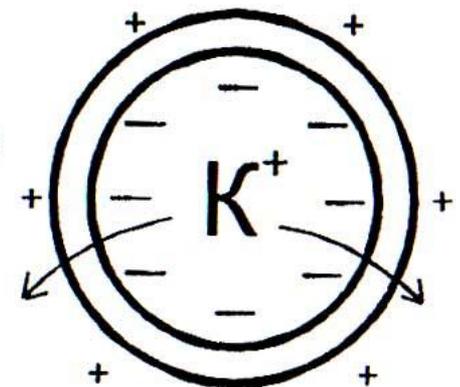
$$\frac{P_{K^+}}{P_{Na^+}} = \frac{1}{20}$$



Клетка поляризована



деполяризована



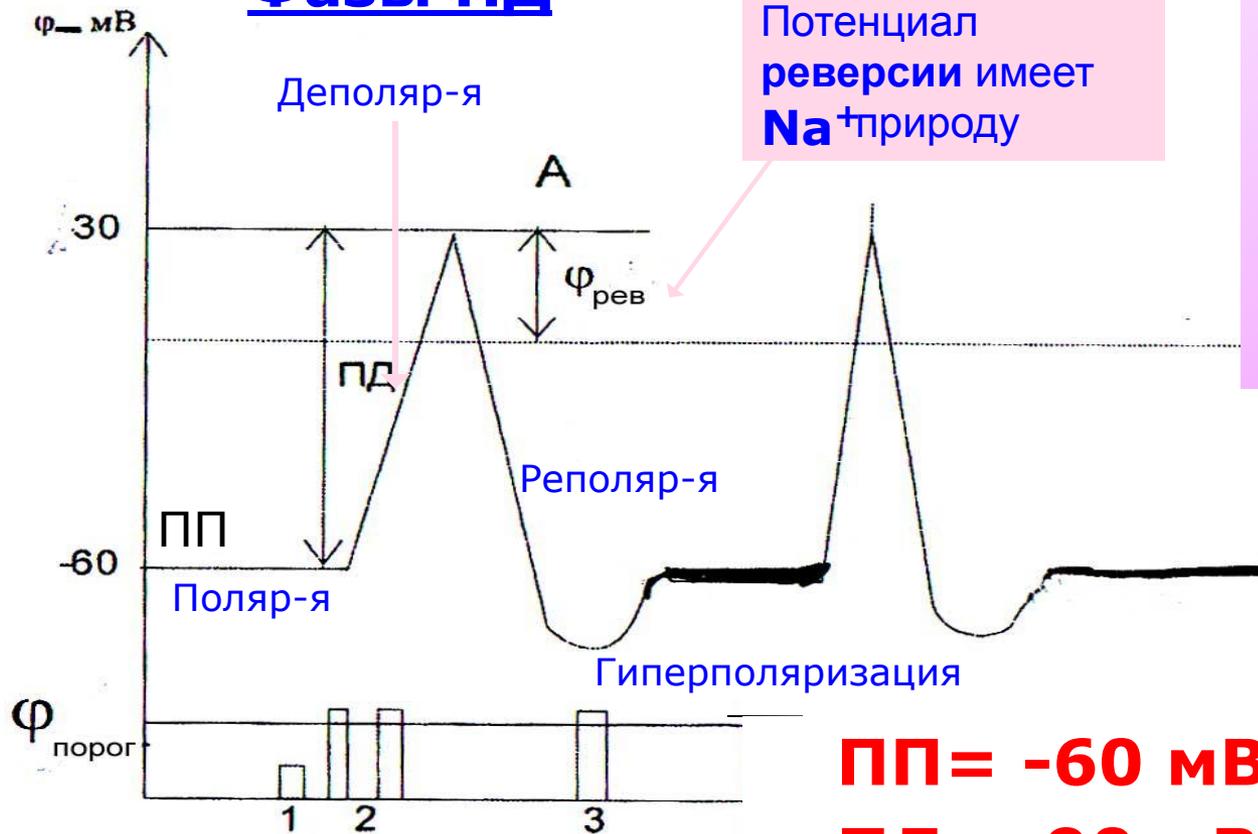
реполяризована

Два способа регистрации потенциала действия:

А-с помощью электрода, введенного в протоплазму (**внутриклеточный** потенциал)

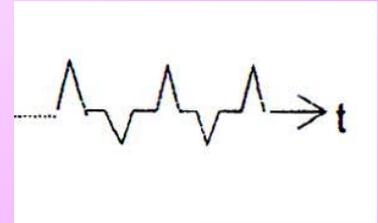
Б- внеклеточный (двухфазный потенциал действия).

Фазы ПД



ПП = -60 мВ

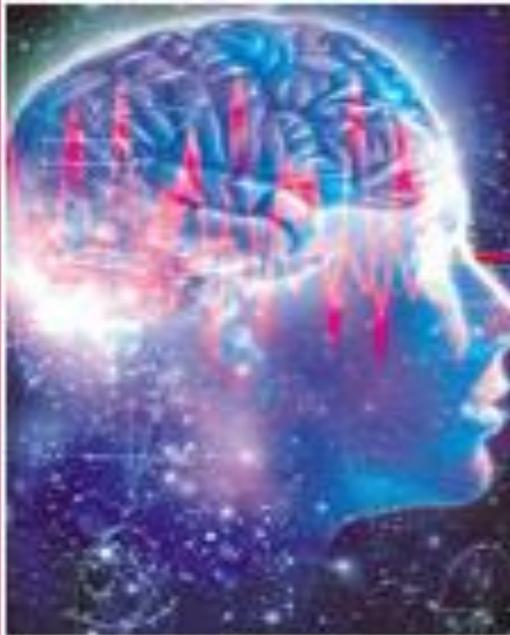
ПД = 90 мВ



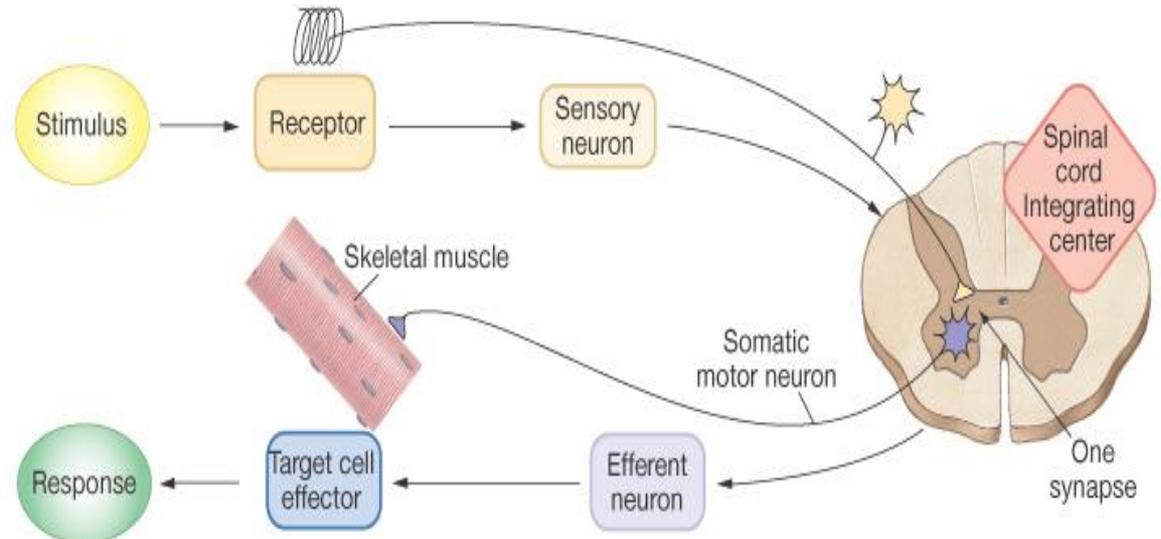
Распространение ПД по нервному волокну

Ходжкин доказал, что **нервный импульс** – это импульс **электрического тока**.

Живой организм – это **электрифицированная система**.
Информация передается от рецепторов к нейронам мозга и от нейронов мозга к мышцам.

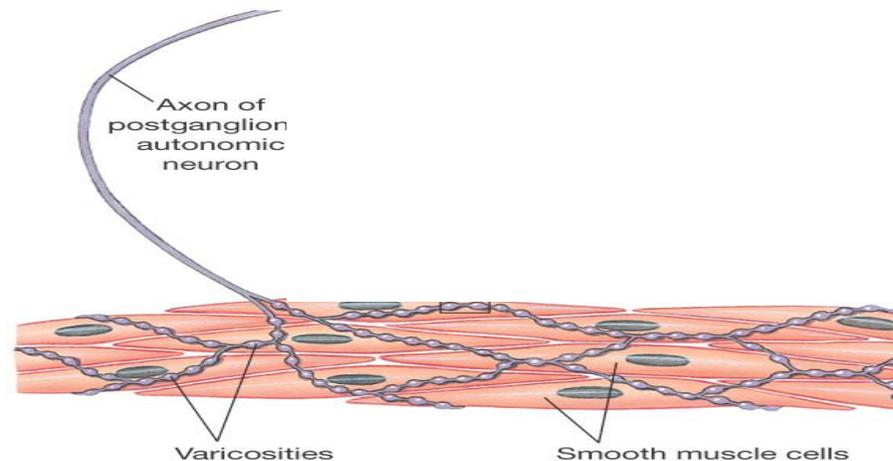


(a) A monosynaptic reflex has a single synapse between the afferent and efferent neurons.



Нервное волокно – аксон нервной клетки образовано осевым цилиндром и покрывающей его оболочкой-невриллеммой.

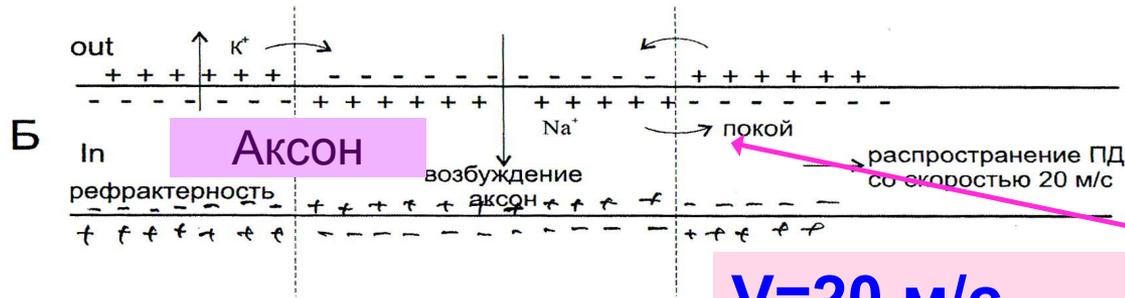
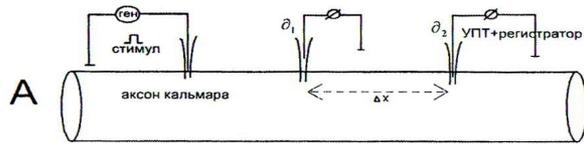
Нерв можно представить как кабель, по которому распространяется волна возбуждения, вследствие раздражения соседних участков.



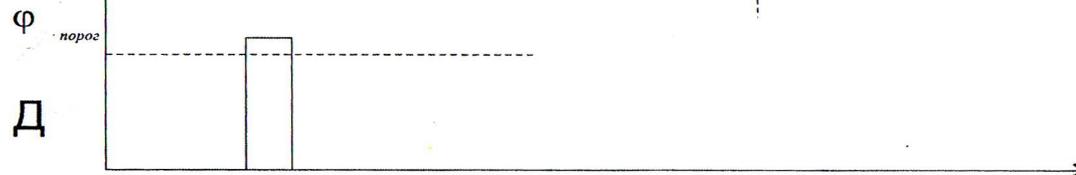
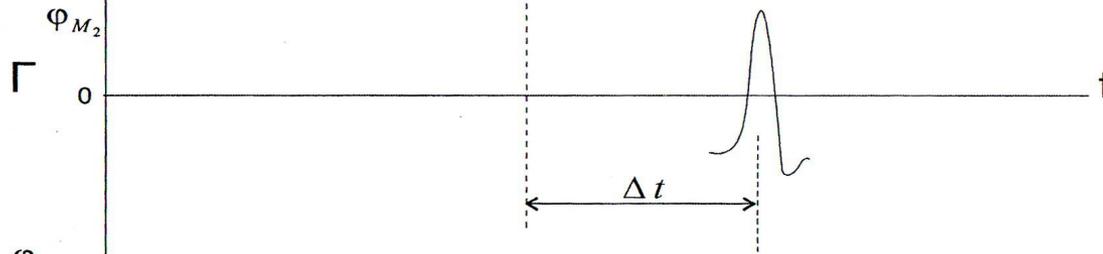
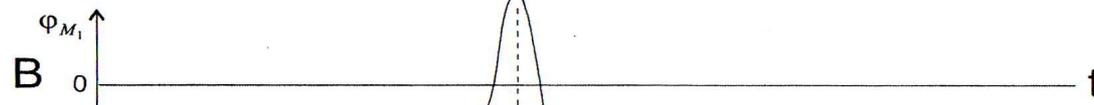
Рассмотрим генерацию и распространение ПД по двум типам нервных волокон: **1. Безмиелиновые** и **2. Миелинизированные**

1. Безмиелиновые

Каждый !участок волокна, воспринимая электрический сигнал от соседних участков нерва, генерирует **ПД**, который затем распространяется дальше. (Теория **локальных токов**). Локальные токи возникают **в аксоне и в окружающем растворе** и движутся как **лесной пожар от возбужденных участков к невозбужденным.**



V=20 м/с



Локальные токи приводят к **повышению** потенциала **внутренней** поверхности **невозбужденного** участка, оказавшегося рядом с возбужденным, и к **понижению** **наружного** потенциала. Мембрана **деполяризуется**, *возрастает* проводимость для ионов **натрия** и **возникает ПД.**

2. Миелинизированные

Миелиновая оболочка способствует ускорению процесса распространения возбуждения в **10** раз и, следовательно, **уменьшает** расход **энергии** на его распространение.

Миелин – изолятор- это **швановские** клетки, намотанные на аксон. Имеет **высокое электрическое сопротивление**.

Диффузия ионов через миелин невозможна.

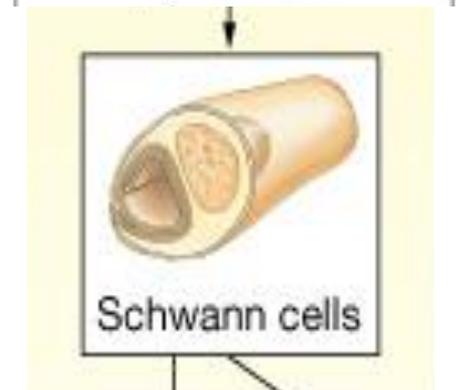
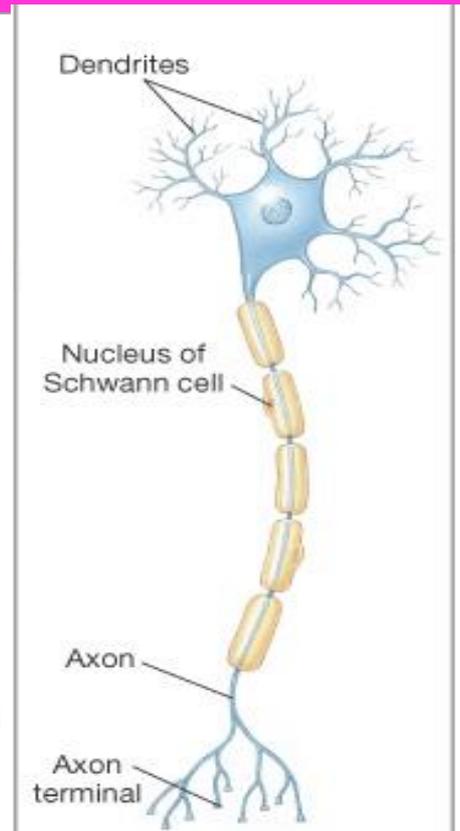
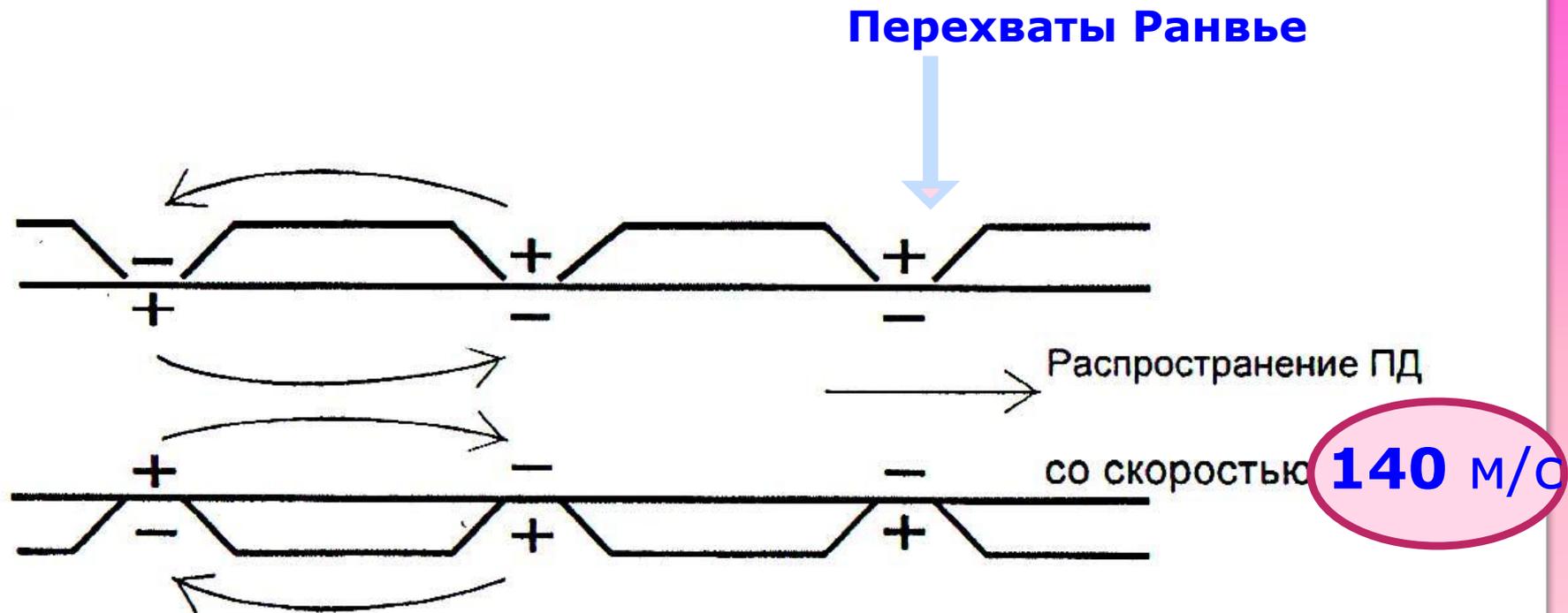


Схема распространения ПД по миелинизированному нервному волокну



Сальтаторное проведение
возбуждения

ПД распространяется вдоль мембраны с постоянной скоростью **без**
уменьшения амплитуды!

Доннановский потенциал. Равновесие Доннана.

Если две фазы изолированы друг от друга и ионные компоненты не могут перейти из одной фазы в другую, устанавливается особое равновесие – **равновесие Доннана**.

Доннановское равновесие устанавливается между клеткой и окружающей средой, если клеточная БМ **хорошо проницаема для неорганических ионов**, но **непроницаема для белков, нуклеиновых кислот и других крупных органических ионов**.

Равновесие Доннана имеет три важных аспекта:

1. Неравномерное распределение ионов.
2. Осмотическое давление.
3. Разность потенциалов между фазами.

Условие электронейтральности – равенство суммарной концентрации анионов (Cl^- и макромолекул P^-) и катионов (K^+) внутри и снаружи клетки:

$$\begin{aligned} [\text{K}^+]_i &= [\text{Cl}^-]_i + n [\text{P}^-]_i \\ [\text{K}^+]_o &= [\text{Cl}^-]_o + n [\text{P}^-]_o \end{aligned}$$

n – число отрицательных зарядов на каждой белковой молекуле.

В мышечных клетках неравномерное распределение K^+ между клеткой и средой ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ насос) создает мембранный потенциал φ_m , который обеспечивает «доннановское» распределение Cl^- :

$$\frac{[\text{K}^+]_i}{[\text{K}^+]_o} = \frac{[\text{Cl}^-]_o}{[\text{Cl}^-]_i} = r \quad r - \text{отношение Доннана}$$