

2.2. Уравнение диффузии неэлектролитов (Фика) записывается:

$$1. J_m = D \frac{dc}{dx}$$

$$3. J_m = -D \frac{dc}{dx}$$

$$2. J_m = D \frac{dc}{dt}$$

$$4. J_m = -D \frac{dc}{dt}$$

2.3. Молекула валиномицина переносит через мембрану:

- 1. K^+ и Na^+
- 2. Ca^{2+}

- 3. Cl^- и OH^-
- 4. K^+

2.4. Перенос вещества при облегченной диффузии идет по сравнению с простой диффузией:

- 1. в противоположную сторону
- 2. быстрее
- 3. медленнее
- 4. с такой же скоростью

ГЛАВА 3. БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ

Одна из важнейших функций биологической мембраны – генерация и передача биопотенциалов. Это явление лежит в основе возбудимости клеток, регуляции внутриклеточных процессов, работы нервной системы, регуляции мышечного сокращения, рецепции. В медицине на исследование 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.

В процессе жизнедеятельности в клетках и тканях могут возникать разности электрических потенциалов:

- 1) окислительно-восстановительные потенциалы – вследствие переноса электронов от одних молекул к другим;
- 2) 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:

$$\Delta\varphi_m = \varphi_{вн} - \varphi_{нар}. \quad (3.1)$$

В дальнейшем во всех главах книги для упрощения написания формул величину $\Delta\varphi$ будем обозначать просто как φ_m .

Прогресс в исследовании биопотенциалов обусловлен:

1) разработкой микроэлектродного метода внутриклеточного измерения потенциалов;

2) созданием специальных усилителей биопотенциалов (УПТ);

3) 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 С.-Петербургом).

В гигантский аксон кальмара можно ввести микроэлектрод, не нанеся аксону значительных повреждений.

Стеклянный микроэлектрод представляет собой стеклянную микропипетку с оттянутым очень тонким кончиком (рис. 3.1. а).

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, покрытая солью $AgCl$. В раствор KCl или $NaCl$ (желатинизированный агар-агаром), заполняющий микроэлектрод (рис. 3.1. б).

Второй электрод – электрод сравнения – располагается в растворе у наружной поверхности клетки (рис. 3.1в). Регистрирующее устройство Р, содержащее усилитель постоянного тока, измеряет мембранный потенциал:

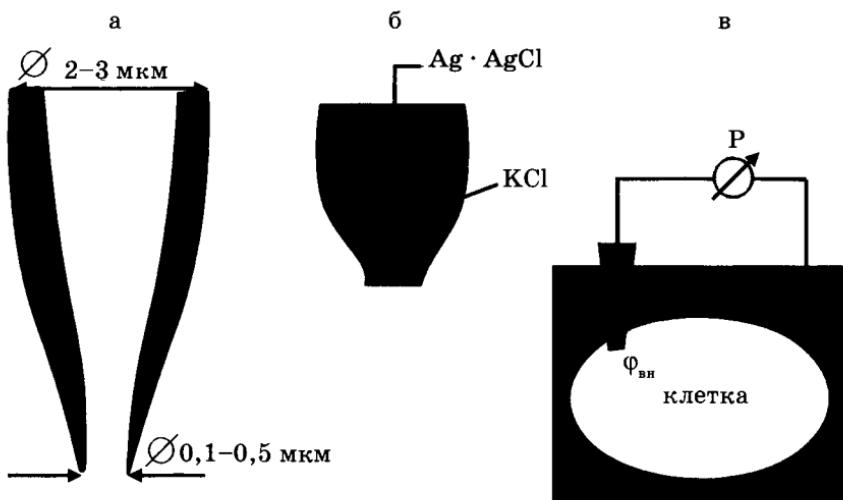


Рис. 3.1. Микроэлектродный метод измерения биопотенциалов:
а – стеклянная микропипетка; б – стеклянный микроэлектрод;
в – схема регистрации мембранныго потенциала

$$\Phi_m = \Phi_{вн} - \Phi_{нар}.$$

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.

Мембранные потенциалы подразделяются на потенциалы покоя и потенциалы действия.

§ 10. Потенциал покоя в клетках

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.

Если концентрация какого-либо иона внутри клетки $C_{вн}$ отлична от концентрации этого иона снаружи $C_{нар}$ и мембрана проницаема для этого иона, возникает поток заряженных частиц через мембрану, вследствие чего нарушается электрическая нейтральность системы, образуется разность потенциалов внутри и снаружи

жи клетки $\Phi_m = \Phi_{bh} - \Phi_{nap}$, которая будет препятствовать дальнейшему перемещению ионов через мембрану. При установлении равновесия выравниваются значения электрохимических потенциалов по разные стороны мембраны: $\mu_{bh} = \mu_{nap}$.

Так как $\tilde{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + ZF\varphi$, то

$$RT \ln C_{bh} + ZF\varphi_{bh} = RT \ln C_{nap} + ZF\varphi_{nap}.$$

Отсюда легко получить формулу Нернста для равновесного мембранныго потенциала

$$\varphi_m^p = \varphi_{bh} - \varphi_{nap} = -\frac{RT}{ZF} \ln \frac{C_{bh}}{C_{nap}}. \quad (3.2)$$

Если мембранный потенциал обусловлен переносом ионов K^+ , для которого $[K^+]_{bh} > [K^+]_{nap}$ и $Z = +1$, равновесный мембранный потенциал

$$\varphi_{m,K^+}^p = -\frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_{bh}}{[K^+]_{nap}} < 0. \quad (3.2,a)$$

Для ионов Na^+ : $[Na^+]_{bh} < [Na^+]_{nap}$, $Z = +1$,

$$\varphi_{m,Na^+}^p = -\frac{RT}{F} \ln \frac{[Na^+]_{bh}}{[Na^+]_{nap}} > 0. \quad (3.2,b)$$

Для ионов Cl^- : $[Cl^-]_{bh} < [Cl^-]_{nap}$, $Z = -1$ и

$$\varphi_{m,Cl^-}^p = -\frac{RT}{F} \ln \frac{[Cl^-]_{bh}}{[Cl^-]_{nap}} < 0. \quad (3.2,c)$$

Если в формуле Нернста перейти от натурального логарифма к десятичному, то для положительного одновалентного иона ($Z = +1$)

$$\varphi_m^p = -\frac{RT}{F} \cdot 2,3 \cdot \lg \frac{C_{bh}}{C_{nap}}.$$

Примем температуру $T = 300$ К, тогда

$$\frac{RT}{F} \cdot 2,3 = \frac{8,3 \text{Дж/(моль} \cdot \text{К)} \cdot 300\text{К}}{96500\text{Кл/моль}} \cdot 2,3 \approx 0,06\text{В.}$$

$$\varphi_m^p \approx -0,06 \lg \frac{C_{vn}}{C_{nap}} (\text{В}).$$

Согласно Бернштейну (1902 г.), причина мембранныго потенциала покоя – диффузия ионов калия из клетки наружу.

Примем в формуле Нернста $\frac{C_{vn}}{C_{nap}} \approx 100$, что по порядку величины соответствуют экспериментальным данным для калия (см. табл. 3.1):

$$\lg \frac{C_{vn}}{C_{nap}} = \lg 100 = 2, \text{ и мембранный потенциал}$$

$$|\varphi_m^p| = 0,06 \cdot 2\text{В} = 0,12\text{В} = 120\text{мВ},$$

что несколько больше модуля экспериментально измеренных значений потенциала покоя, и, пользуясь формулами электростатики, оценим, какое количество ионов должно перейти из цитоплазмы в неклеточную среду, чтобы создать такую разность потенциалов. Радиус клетки $r = 10 \text{ мкм} = 10^{-5} \text{ м}$. Удельная электроемкость мембраны (электроемкость на единицу площади) $C_{уд} \approx 10^{-2} \Phi / \text{м}^2$. Площадь мембраны $4\pi r^2 \approx 4\pi \cdot 10^{-10} \text{м}^2 \approx 10^{-9} \text{м}^2$. Тогда электроемкость мембраны $C = C_{уд} \cdot S \approx 10^{-2} \frac{\Phi}{\text{м}^2} \cdot 10^{-9} \text{м}^2$.

Абсолютная величина заряда каждого знака на поверхности мембраны, если ее представить себе как конденсатор,

$$|q| = C\Delta\phi \approx 10^{-11} \Phi \cdot 10^{-1} \text{В} = 10^{-12} \text{Кл},$$

что соответствует

$$\frac{q}{F} \approx \frac{10^{-12} \text{Кл}}{10^5 \text{Кл/моль}} = 10^{-17} \text{ моль ионов.}$$

Объем клетки

$$V = \frac{4}{3} \pi r^3 \approx \frac{4}{3} \pi 10^{-15} \text{ м}^3 \approx 5 \cdot 10^{-15} \text{ м}^3.$$

Изменение концентрации ионов в клетке вследствие выхода из клетки 10^{-17} моль ионов составит

$$\Delta C = \frac{10^{-17} \text{ моль}}{5 \cdot 10^{-15} \text{ м}^3} \approx 2 \cdot 10^{-3} \text{ моль/м}^3 = 2 \cdot 10^{-3} \text{ ммол/л.}$$

Это ничтожное изменение концентрации по сравнению с изменением концентрации ионов калия внутри клетки (см. табл. 3.1), составляет всего $10^{-4} \%$ от концентрации калия внутри клетки. Таким образом, чтобы создать равновесный нернстовский мембранный потенциал, через мембрану должно пройти пренебрежимо малое количество ионов по сравнению с общим их количеством в клетке.

В табл. 3.1 приведены значения мембранных потенциала, рассчитанного по формуле Нернста для различных клеток и для различных ионов, и экспериментально полученные значения потенциала покоя для этих клеток $\Phi_m^\text{п}$.

Из сравнения рассчитанных и экспериментальных значений мембранных потенциала видно, что потенциал покоя на самом деле ближе к потенциалу, рассчитанному по формуле Нернста для K^+ .

Вместе с тем, обращает на себя внимание значительное расхождение экспериментальных и теоретических значений. Причины расхождения в том, что не учтена проницаемость мембраны для других ионов.

Одновременная диффузия через мембрану ионов K^+ , Na^+ и Cl^- учитывается уравнением Гольдмана.

Уравнение Гольдмана можно вывести из уравнения Нернста-Планка (2.3).

$$j_m = -URT \frac{dC}{dx} - UCZF \frac{d\phi}{dx}.$$

Преобразуем это уравнение:

$$j_m = -URT \left(\frac{dC}{dx} + \frac{CZF}{RT} \cdot \frac{d\phi}{dx} \right).$$

$URT = D$ согласно соотношению Эйнштейна. Примем так называемое приближение постоянного поля Гольдмана. Будем считать напряжен-

Таблица 3.1. Содержание ионов K^+ , Na^+ , Cl^- , равновесные потенциалы и потенциалы покоя некоторых клеток

Объект	Концентрация, ммоль/л						Φ_m^p , мВ по формуле Нернста			Φ_m^n , мВ экспер	
	[K^+]		[Na^+]		[Cl^-]		K^+	Na^+	Cl^-		
	вн.	нар.	вн.	нар.	вн.	нар.					
Гигантский аксон	360	10	70	420	160	500	-90	+50	-30	-60	
Мышца лягушки	125	2,5	15	125	11	120	-98	+60	-87	-94	

ность электрического поля в мембране постоянной и равной среднему значению градиента потенциала:

$$\frac{d\phi}{dx} \approx \frac{\Delta\phi}{\Delta x} = \frac{\Phi_{вн} - \Phi_{нар}}{l} = \frac{\Phi_m}{l},$$

где l – толщина мембраны.

Получим для плотности ионного потока через мембрану:

$$j_m = -D \left(\frac{dC}{dx} + \frac{Z F \Phi_m}{RT} \cdot \frac{\Phi_m}{l} \right).$$

$$\text{Обозначим } \frac{Z F \Phi_m}{RT} = \Psi. \text{ Запишем } j_m = -D \left(\frac{dC}{dx} + \frac{C\Psi}{l} \right).$$

Разделим переменные:

$$\frac{j_m}{D} = -\frac{dC}{dx} - \frac{C\Psi}{l}; \quad \left(\frac{j_m}{D} + \frac{C\Psi}{l} \right) = -\frac{dC}{dx}; \quad dx = -\frac{dC}{\frac{j_m}{D} + \frac{C\Psi}{l}}.$$

Проинтегрируем левую часть дифференциального уравнения в пределах от 0 до 1, а правую от $C_{нар}^m = KC_{нар}$ до $C_{вн}^m = KC_{вн}$ (где K – коэффициент распределения)

$$\int_0^l dx = - \int_{KC_{нар}}^{KC_{вн}} \frac{dC}{\frac{j_m}{D} + \frac{C\Psi}{l}}.$$

Получим:

$$-l = \frac{l}{\Psi} \ln \frac{\frac{j_m}{D} + \frac{KC_{bh}\phi}{l}}{\frac{j_m}{D} + \frac{KC_{nap}\phi}{l}}.$$

После потенцирования

$$e^{-\Psi} = \frac{\frac{j_m}{D} + \frac{KC_{bh}\phi}{l}}{\frac{j_m}{D} + \frac{KC_{nap}\phi}{l}}.$$

Выразим отсюда:

$$j_m = \Psi \frac{DK}{l} \cdot \frac{(C_{bh} - C_{nap} e^{-\Psi})}{e^{-\Psi} - 1}.$$

Учитывая, что $\frac{DK}{l} = P$, получим:

$$j_m = \Psi P \cdot \frac{(C_{bh} - C_{nap} e^{-\Psi})}{e^{-\Psi} - 1}.$$

В стационарном случае, когда, возникшая на мембране, разность потенциалов – мембранный потенциал – тормозит дальнейший перенос ионов через мембрану, суммарный поток различных ионов становится равным нулю:

$$j_{Na^+} + j_{K^+} - j_{Cl^-} = 0.$$

Перед j_{Cl^-} стоит знак минус, учитывающий отрицательный заряд иона хлора. Однако, так как в создании мембранных потенциала участвуют различные ионы, равновесие при этом не наступает, потоки различных ионов не равны нулю по отдельности. Если учесть только потоки j_{K^+} и j_{Na^+} , то

$$j_{K^+} + j_{Na^+} = 0, \text{ или } j_{K^+} = -j_{Na^+}.$$

и, подставив, получим:

$$P_K \frac{[K^+]_{bh} - [K^+]_{nap} e^{-\Psi}}{e^{-\Psi} - 1} = P_{Na} \frac{[Na^+]_{bh} - [Na^+]_{nap} e^{-\Psi}}{e^{-\Psi} - 1}$$

и

$$e^{-\psi} = \frac{P_K [K^+]_{\text{вн}} + P_{Na} [Na^+]_{\text{вн}}}{P_K [K^+]_{\text{нап}} + P_{Na} [Na^+]_{\text{нап}}}$$

Отсюда:

$$-\psi = \ln \frac{P_K [K^+]_{\text{вн}} + P_{Na} [Na^+]_{\text{вн}}}{P_K [K^+]_{\text{нап}} + P_{Na} [Na^+]_{\text{нап}}}$$

Поскольку

$$\psi = \frac{Z F \varphi_m}{R T} = \frac{F \varphi_m}{R T} \quad (Z=1),$$

то

$$\varphi_m = -\frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_{\text{вн}} + P_{Na} [Na^+]_{\text{вн}}}{P_K [K^+]_{\text{нап}} + P_{Na} [Na^+]_{\text{нап}}}.$$

Если учесть еще и поток ионов Cl^- , то, повторив предыдущие рассуждения, можно получить уравнение для мембранныго потенциала, созданного потоками через мембрану трех видов ионов, **уравнение Гольдмана**:

$$\varphi_m = -\frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_{\text{вн}} + P_{Na} [Na^+]_{\text{вн}} + P_{Cl} [Cl^-]_{\text{нап}}}{P_K [K^+]_{\text{нап}} + P_{Na} [Na^+]_{\text{нап}} + P_{Cl} [Cl^-]_{\text{вн}}}. \quad (3.3)$$

В числителе выражения, стоящего под знаком логарифма, представлены концентрации $[K^+]_{\text{вн}}$, $[Na^+]_{\text{вн}}$, но $[Cl^-]_{\text{нап}}$, а в знаменателе – $[K^+]_{\text{нап}}$, $[Na^+]_{\text{нап}}$, но $[Cl^-]_{\text{вн}}$, так как ионы хлора отрицательно заряжены.

В состоянии покоя проницаемость мембраны для ионов K^+ значительно больше, чем для Na^+ , и больше, чем для Cl^- :

$$P_K >> P_{Na}, \quad P_K > P_{Cl}.$$

Для аксона кальмара, например,

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

Переписав уравнение Гольдмана в виде:

$$\varphi_m = -\frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_{bh} + \frac{P_{Na}}{P_K} [Na^+]_{bh} + \frac{P_{Cl}}{P_K} [Cl^-]_{nap}}{[K^+]_{nap} + \frac{P_{Na}}{P_K} [Na^+]_{nap} + \frac{P_{Cl}}{P_K} [Cl^-]_{bh}},$$

в случае, когда проницаемость мембраны для ионов натрия и хлора значительно меньше проницаемости для калия:

$$P_{Na} \ll P_K \text{ и } P_{Cl} \ll P_K,$$

из уравнения Гольдмана получим уравнение Нернста для мембранныго потенциала покоя:

$$\varphi_m^n = -\frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_{bh}}{[K^+]_{nap}}.$$

Таким образом, уравнение Нернста – частный случай уравнения Гольдмана.

Мембранный потенциал, рассчитанный по уравнению Гольдмана, оказался по абсолютной величине меньше мембранныго потенциала, рассчитанного по формуле Нернста, ближе к экспериментальным его значениям в крупных клетках. И формула Нернста, и уравнение Гольдмана не учитывают активного транспорта ионов через мембрану, наличия в мембранах электрогенных (вызывающих разделение зарядов, а следовательно и возникновение разности потенциалов) ионных насосов, играющих важную роль в поддержании ионного равновесия в мелких клетках. В цитоплазматической мемbrane работают K^+ - Na^+ -АТФазы, перекачивающие калий внутрь клетки, а натрий из клетки. С учетом работы электрогенных ионных насосов для мембранныго потенциала было получено уравнение Томаса (Томас, 1972 г.):

$$\varphi_m = -\frac{RT}{F} \ln \frac{mP_K[K^+]_{bh} + P_{Na}[Na^+]_{bh}}{mP_K[K^+]_{nap} + P_{Na}[Na^+]_{nap}}, \quad (3.4)$$

где m – отношение количества ионов натрия к количеству ионов калия, перекачиваемых ионными насосами через мембрану. Чаще всего K^+ - Na^+ -АТФаза работает в режиме, когда $m = 3/2$,

m всегда больше 1. (Нет ионных насосов, перекачивающих Cl^- , поэтому в уравнении Томаса отсутствуют члены $P_{\text{Cl}} [\text{Cl}^-]$.)

Коэффициент $m > 1$ усиливает вклад градиента концентрации калия в создание мембранныго потенциала, поэтому мембранный потенциал, рассчитанный по Томасу, больше по абсолютной величине, чем мембранный потенциал, рассчитанный по Гольману, и дает совпадение с экспериментальными значениями для мелких клеток.

Нарушение биоэнергетических процессов в клетке и работы $\text{K}^+ \text{-Na}^+$ -АТФазы приводит к уменьшению $|\Phi_m|$, в этом случае мембранный потенциал лучше описывается уравнением Гольдмана.

Повреждение клеточной мембраны приводит к повышению проницаемости клеточных мембран для всех ионов: к повышению и P_K , и P_{Na} , и P_{Cl} . Вследствие уменьшение различия проницаемостей абсолютное значение мембранныго потенциала $|\Phi_m|$ снижается.

Для сильно поврежденных клеток $|\Phi_m|$ еще меньше, но сохраняется отрицательный мембранный потенциалза φ_m счет содержащихся в клетке полианионов – отрицательно заряженных белков, нуклеиновых кислот и других крупных молекул, не могущих проникнуть через мембрану (доннановский потенциал).

§ 11. Потенциал действия

Посредством электрических нервных импульсов (потенциалов действия) в живом организме передается информация от рецепторов к нейронам мозга и от нейронов мозга к мышцам. Живой организм является полностью электрифицированной системой. Без электричества нет жизни.

Потенциал действия был открыт раньше потенциала покоя. Животное электричество известно давно. Разряды электрического угря (происходящие при напряжении до 600 В, с током около 60 А и длительностью порядка миллисекунды) использовались медициной еще в Древнем Риме для лечения подагры, головной боли, эпилепсии. Электрический нервный импульс открыл Луиджи Гальвани, профессор анатомии в г. Болонья. Результаты его электрофизиологических опытов изложены в книге “Трактат о силах электричества при мышечном движении” (1791 г.). Гальвани открыл, что мышечные сокращения конечностей препарированной лягушки могут вызваться электрическим импульсом и что сама живая система