

$m$  всегда больше 1. (Нет ионных насосов, перекачивающих  $\text{Cl}^-$ , 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  $P_{\text{Na}}$ , и  $P_{\text{Cl}}$ . Вследствие уменьшение различия проницаемостей абсолютное значение мембранныго потенциала  $|\Phi_m|$  снижается.

Для сильно поврежденных клеток  $|\Phi_m|$  еще меньше, но сохраняется отрицательный мембранный потенциалза  $\varphi_m$  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

ма является источником электрического импульса. Великое открытие Гальвани сыграло выдающуюся роль в развитии физики, электротехники, электрохимии, физиологии, биофизики, медицины. Однако огромная популярность идей Гальвани привела к их профанациям, следы которых остались до нашего времени (гальванизация трупов, гальванизм прикосновений и взглядов и т.д.), что вызывало недоверие к экспериментам Гальвани ученых-физиков. Младший современник Гальвани профессор физики Алессандро Вольта был яростным противником идеи животного электричества (за исключением особых случаев электрических рыб: электрического угря и электрического ската). В своих экспериментах он исключил биологический объект и показал, что электрический ток может быть получен при контакте набора металлов, разделенных электролитом (вольтов столб). Так был открыт химический источник тока (названный, однако, позже, в честь его научного противника гальваническим элементом).

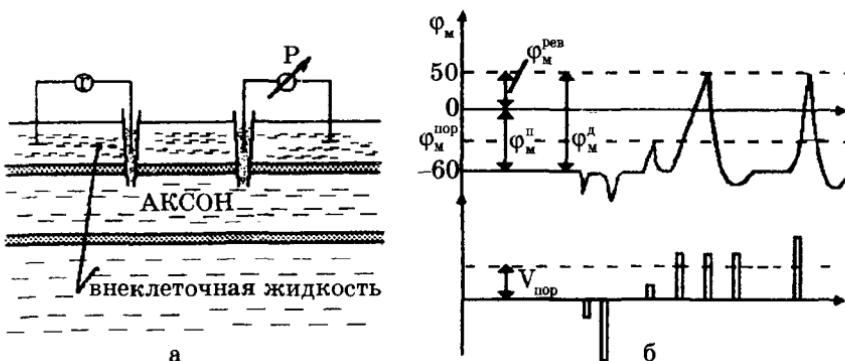
В XIX веке утвердилось примитивное представление о распространении электрических токов по нервам, как по проводам. Однако Гельмгольцем (вторая половина XIX века) было показано, что скорость распространения нервного импульса составляет лишь  $1 - 100$  м/с, это значительно меньше, чем скорость распространения электрического импульса по проводам до  $3 \cdot 10^8$  м/с. Поэтому к концу XIX века гипотеза электрической природы нервного импульса была отвергнута большинством физиологов. Было выдвинуто предположение о распространении по нервным волокнам химической реакции. На самом деле, как было показано позже, медленное распространение электрического нервного импульса связано с медленной перезарядкой конденсаторов, которые представляют собой клеточные мембранны, через большие сопротивления. Постоянная времени перезарядки мембранны  $\tau = RC$  велика, так как велики емкость мембранны ( $C$ ) и сопротивление  $R$  нервного волокна.

То, что нервный импульс представляет собой импульс электрического тока, было доказано лишь к середине 20-го века, в основном в работах английского физиолога А. Ходжкина и его сотрудников. В 1963 году Ходжкину, Хаксли и Иклсу была присуждена Нобелевская премия по медицине “за оперирование нервных клеток”.

**Потенциалом действия (ПД)** называется электрический импульс, обусловленный изменением ионной проницаемости мембранны и связанный с распространением по нервам и мышцам волны возбуждения.

Опыты по исследованию потенциала действия проведены (в основном Ходжкиным и его сотрудниками) на гигантских аксонах кальмара методом микроэлектродов с использованием высокоомных измерителей напряжения, а также методом мечевых атомов. На рис. 3.2, а показаны схема опытов и результаты исследований.

В опытах по исследованию потенциала действия использовали два микроэлектрода, введенных в аксон. На первый микроэлектрод подается импульс с амплитудой  $V$  от генератора Г прямоугольных импульсов, меняющий мембранный потенциал. Мембранный потенциал измеряется при помощи второго микроэлектрода высокоменным регистратором напряжения Р.



**Рис. 3.2. Исследование потенциала действия:**  
а – схема опыта (Г – генератор импульсов, Р – регистратор напряжения); б – потенциал действия ( $\Phi_m^п$  – потенциал покоя,  $\Phi_m^{рев}$  – потенциал реверсии,  $\Phi_m^д$  – амплитуда потенциала действия,  $\Phi_m^пор$  – пороговый потенциал)

Возбуждающий импульс вызывает лишь на короткое время смещение мембранныго потенциала, который быстро пропадает и восстанавливается потенциал покоя. В том случае, когда возбуждающий импульс смещается еще дальше в отрицательную сторону, он сопровождается гиперполяризацией мембраны. Также не формируется потенциал действия, когда возбуждающий импульс положительный (деполяризующий), но его амплитуда меньше порогового значения  $V_{пор}$ . Однако, если амплитуда положительного, деполяризующего импульса окажется больше значения  $V_{пор}$ ,  $\Phi_m$  становится больше  $\Phi_m^пор$  и в мембране развивается процесс, в результате которого происходит

резкое повышение мембранныго потенциала и мембранный потенциал  $\varphi_m$  даже меняет свой знак – становится положительным ( $\varphi_{\text{вн}} > \varphi_{\text{нар}}$ ), (рис. 3.26).

Достигнув некоторого положительного значения  $\varphi_m^{\text{рев}}$  – потенциала реверсии, мембранный потенциал возвращается к значению потенциала покоя  $\varphi_m^{\text{п}}$ , совершив нечто вроде затухающего колебания. В нервных волокнах и скелетных мышцах длительность потенциала действия около 1 мс (а в сердечной мышце около 300 мс (см. § 14). После снятия возбуждения еще в течение 1 – 3 мс в мембране наблюдаются некоторые остаточные явления, во время которых мембрана рефрактерна (невозбудима).

Новый деполяризующий потенциал  $V > V^{\text{пор}}$  может вызвать образование нового потенциала действия только после полного возвращения мембраны в состояние покоя. Причем амплитуда потенциала действия

$$\varphi_m^{\Delta} = |\varphi_m^{\text{п}}| + \varphi_m^{\text{рев}}$$

не зависит от амплитуды деполяризующего потенциала (если только  $V > V^{\text{пор}}$ ). Если в покое мембрана поляризована (потенциал цитоплазмы отрицателен по отношению к внеклеточной среде), то при возбуждении происходит деполяризация мембраны (потенциал внутри клетки положителен) и после снятия возбуждения происходит реполяризация мембраны.

Характерные свойства потенциала действия:

1) наличие порогового значения деполяризующего потенциала;

2) закон “все или ничего”, то есть, 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;

3) есть период рефрактерности, невозбудимости мембраны во время развития потенциала действия и остаточных явлений после снятия возбуждения;

4) в момент возбуждения резко уменьшается сопротивление мембранны (у аксона кальмара от  $0,1 \text{ Ом} \cdot \text{м}^2$  в покое до  $0,0025 \text{ Ом} \cdot \text{м}^2$  при возбуждении).

Если обратиться к данным для значений равновесных нервосто-сих потенциалов, созданных различными ионами (табл. 3.1), естественно предположить, что положительный потенциал реверсии имеет натриевую природу, поскольку именно диффузия на-

трия создает положительную разность потенциалов между внутренней и наружной поверхностями мембраны.

Можно менять амплитуду импульса потенциала действия, изменяя концентрацию натрия в наружной среде. При уменьшении наружной концентрации натрия амплитуда потенциала действия уменьшается, так как меняется потенциал реверсии. Если из окружающей клетку среды полностью удалить натрий, потенциал действия вообще не возникает.

Опыты, проведенные с радиоактивным изотопом натрия, позволили установить, что при возбуждении проницаемость для натрия резко возрастает. Если в состоянии покоя соотношение коэффициентов проницаемости мембранны аксона кальмара для разных ионов:

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

то в состоянии возбуждения:

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

то есть, по сравнению с невозбужденным состоянием, при возбуждении коэффициент проницаемости для натрия возрастает в 500 раз.

Расчеты мембранныного потенциала реверсии по уравнению Гольдмана, если в него подставить значения проницаемостей мембранны для возбужденного состояния, совпадают с экспериментальными данными.

Возбуждение мембранны описывается **уравнениями Ходжкина-Хаксли**. Одно из уравнений Ходжкина-Хаксли имеет вид:

$$I_m = C_m \frac{d\phi_m}{dt} + \sum I_i, \quad (3.5)$$

где  $I_m$  – ток через мембрану,  $C_m$  – емкость мембранны,  $\sum I_i$  – сумма ионных токов через мембрану.

Электрический ток через мембрану складывается из ионных токов: ионов калия –  $I_{K^+}$ , натрия –  $I_{Na^+}$  и других ионов, в том числе  $Cl^-$ , так называемого тока утечки  $I_{ye}$ , а также емкостного тока. Емкостной ток обусловлен перезарядкой конденсатора, который представляет собой мембрана, перетеканием зарядов с одной ее поверхности на другую. Его величина определяется количеством заряда, перетекающего с одной обкладки на дру-

тую за единицу времени  $dq/dt$ , а поскольку заряд конденсатора  $q = C_m \Delta\phi = C_m \Phi_m$ , то емкостной ток  $C_m \frac{d\Phi_m}{dt}$ .

Полный мембранный ток

$$I_m = C_m \frac{d\Phi_m}{dt} + I_{K^+} + I_{Na^+} + I_{yt}, \quad (3.6)$$

На рис. 3.3 представлена эквивалентная электрическая схема элемента возбудимой мембраны.

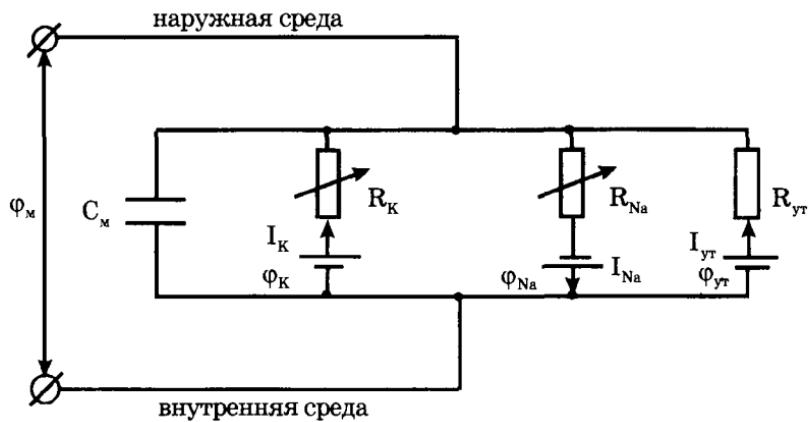


Рис. 3.3. Эквивалентная электрическая схема элемента возбудимой мембраны

Каждый ионный ток определяется разностью мембранныго потенциала  $\Phi_m$  и равновесного нернستовского потенциала, создаваемого диффузией ионов данного типа  $\Phi_i^p$ :

$$I_i = g_i (\Phi_m - \Phi_i^p), \quad (3.7)$$

где  $g_i = \frac{1}{R_i}$  – проводимость (величина, обратная сопротивлению элемента мембраны для ионов данного типа).

На эквивалентной электрической схеме элемента мембраны равновесные потенциалы Нернста моделируются источниками напряжений с электродвижущими силами:  $\Phi_K^p$ ,  $\Phi_{Na}^p$ ,  $\Phi_{yt}^p$ , а про-

водимости элемента мембранны для разных ионов моделируются резисторами  $R_K$ ,  $R_{Na}$ ,  $R_{yt}$ .

Воспользовавшись (3.7), запишем (3.6) в виде:

$$I_m = C_m \frac{d\phi_m}{dt} + g_K (\phi_m - \phi_m^p) + g_{Na} (\phi_m - \phi_{Na}^p) + g_{yt} (\phi_m - \phi_{yt}^p) \quad (3.8)$$

Согласно теории Ходжкина–Хаксли, возбуждение элемента мембранны связано с изменениями проводимости мембранны для ионов  $Na^+$  и  $K^+$ :  $g_K$  и  $g_{Na}$ .

Проводимости мембранны сложным образом зависят от мембранныного потенциала и времени (см. § 13).

**Опыты с фиксацией напряжения.** Для доказательства решающей роли ионных токов в генерации нервного импульса были поставлены знаменитые опыты с фиксацией мембранныного потенциала  $\phi_m = \phi_{vn} - \phi_{nap}$  (Ходжкин, Хаксли и др.).

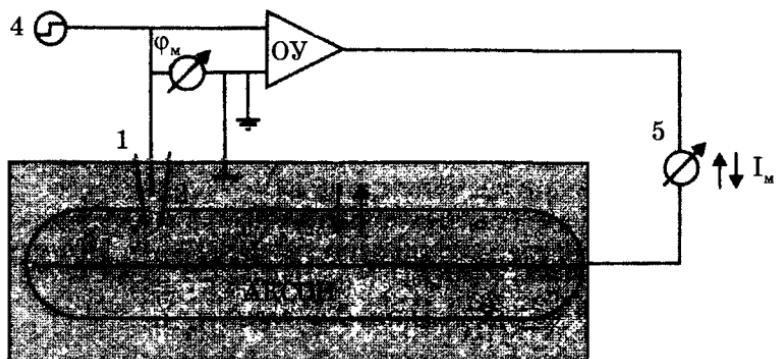
Поддержание постоянного напряжения  $\phi_m$  при исследовании токов через возбужденную мембранию позволяло:

- 1) избавиться от емкостных токов  $C_m d\phi_m/dt$ ;
- 2) исключить изменение ионных проводимостей  $g_{Na}$  и  $g_K$  при изменении  $\phi_m$  и изучить их изменение в различные фазы развития возбуждения:  $g_i = f(t)$ .

Постоянная разность потенциалов между внутренней и наружной поверхностями мембранны поддерживается при помощи специальной электронной схемы (рис. 3.4), ключевой элемент которого – операционный усилитель (ОУ). (В основном ОУ представляют собой усилители постоянного тока, охваченные глубокой отрицательной обратной связью по напряжению.)

Между входами в ОУ – разность потенциалов микроэлектрода, помещенного внутрь аксона кальмара (1), и электрода сравнения (2), то есть мембранный потенциал  $\phi_m = \phi_{vn} - \phi_{nap}$ . На выходе операционного усилителя создается напряжение, компенсирующее изменение трансмембранныного потенциала. Это напряжение подается на серебряный проводник (3), расположенный вдоль аксона, чтобы по всему волокну была одна и та же мембранныя разность потенциалов. Электронная схема удерживает на выходе (внутри аксона) тот же потенциал, что и на входе ОУ, таким образом удерживается постоянный мембранный потенциал:  $\phi_m = \text{const}$ . При помощи генератора постоянного напряжения (4) можно “ступенькой” изменить входное напряжение ОУ, например, поднять его выше порогового. Электронная схема будет удерживать это заданное напряжение во

время опыта. Амперметр (5) измеряет протекающий при этом через мембрану ток (между электродом сравнения (2) и выходящим электродом ОУ (3) (рис. 3.4). В опытах с фиксацией напряжения можно исследовать изменение мембранныго тока во времени, при развитии возбуждения, задавая разные постоянные значения мембранныго потенциала  $\phi_m$ .



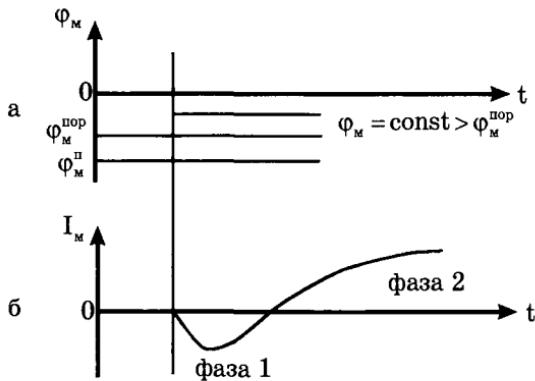
**Рис. 3.4.** Схема исследования токов через мембрану с фиксацией мембранныго потенциала (1 – микроэлектрод, 2 – электрод сравнения, 3 – серебряный проводник, 4 – генератор постоянного напряжения, 5 – амперметр, ОУ – операционный усилитель)

Будем считать ток, направленный из клетки наружу в окружающий раствор положительным, а внутрь клетки из окружающего раствора – отрицательным.

Обнаружено, что, если поднять мембранный потенциал  $\phi_m$  выше порогового (рис. 3.5а), сначала течет ток внутрь клетки, а затем из клетки наружу (рис. 3.5б).

В экспериментах, проведенных Ходжкиным, Хаксли, Бейкером, Шоу, было доказано, что фаза 1 мембранныго тока связана с потоком ионов натрия из окружающей среды (где концентрация натрия больше) в клетку (где она меньше), а фаза два объясняется вытеканием ионов калия из клетки наружу.

В своих опытах Ходжкин и Хаксли изменяли ионный состав окружающего раствора. Было обнаружено, что, если снаружи убирали натрий, первая фаза мембранныго тока (ток внутрь клетки) пропадала. Следовательно, на самом деле, первая фаза развития потенциала действия связана с увеличением проницаемости мембраны для ионов натрия. Поток положительных частиц в клетку приводит к деполяризации мембраны – внутренняя ее поверхность заряжается положительно по отношению к наружной.



**Рис. 3.5. Результаты исследований мембранных токов методом фиксации напряжения**

Во второй фазе резко увеличивается проницаемость мембраны для калия и из клетки наружу выходят положительно заряженные ионы калия, в то время как натриевый ток уменьшается.

Ионный механизм развития потенциала действия был окончательно доказан в решающем эксперименте Ходжкина, Бейкера и Шоу, в котором аксоноплазму препарированного аксона заменили на наружный раствор, а ионный состав наружного раствора сделали таким же, как у нормальной аксоноплазмы. При такой замене ионных составов изменила знак разность потенциалов на мембране. Теперь в покое внутренняя ее поверхность была заряжена положительно по отношению к наружной. А потенциал действия оказался отрицательным.

Выдвинута гипотеза, что селективное (избирательное) изменение ионной проницаемости возбужденной мембраны: сначала для  $\text{Na}^+$ , а потом для  $\text{K}^+$  – объясняется тем, что в мемbrane имеются специальные ионные каналы (предположительно, это поры, образованные белковыми молекулами), см. § 15. Существуют отдельно натриевые и калиевые каналы, которые открываются и закрываются во время прохождения через данный участок мембраны нервного импульса. В первой фазе – открываются натриевые каналы, во второй фазе – калиевые. Соответственно, сначала закрываются натриевые каналы, а затем калиевые. Открывание и закрывание ионных каналов вызывается изменением мембранныго потенциала.

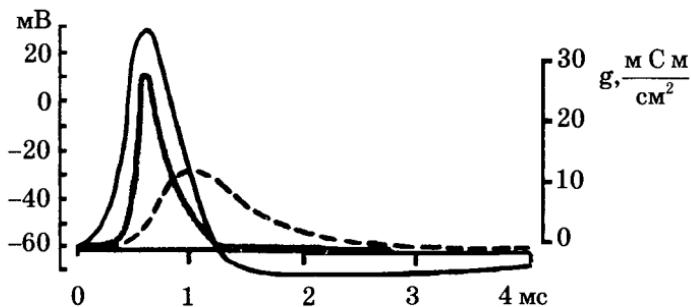
Одно из доказательств наличия в мембране ионных каналов – существование веществ, блокирующих ионные потоки через мембрану.

Так, содержащийся в рыбе фугу тетродотоксин блокирует поступление внутрь клетки натрия и, таким образом, нарушает передачу нервного импульса, что может привести к летальному исходу. Доказано, что тетродотоксин не влияет на проницаемость клетки для калия, значит, ионы натрия и калия на самом деле проходят через разные каналы.

Из-за своего специфического строения молекулы тетродотоксина, по-видимому, застревают в натриевых каналах. Подсчитав число застрявших в мембране молекул тетродотоксина, удалось определить количество натриевых каналов. В разных нервных волокнах позвоночных оно было разным – от 3 до 75 каналов на один квадратный микрометр площади мембранны (для сравнения количество молекул фосфолипидов  $\approx 2 \cdot 10^6$  1/ $\mu\text{м}^2$ ).

Был обнаружен и специфический ингибитор калиевых каналов – тетраэтиламмоний.

Если обработать мембрану тетродотоксином, блокирующим натриевые каналы, в опытах с фиксацией мембранныго потенциала пропадает первая фаза (рис. 3.5), а тетраэтиламмоний, прекращающий перенос через мембрану калия, вызывает исчезновение второй фазы.



**Рис. 3.6.** Изменение проводимости мембранны для ионов калия ( $g_K$ ) и натрия ( $g_{Na}$ ) во время развития потенциала действия (справа шкала проводимости  $g$ , слева – потенциалы  $\Phi_m$ )

Таким образом, установлено, что формирование потенциала действия вызывается ионными потоками через мембрану: сначала ионы натрия внутрь клетки, а затем – ионы калия из клетки в наружный раствор (рис. 3.5), что связано с изменением проводимости мембранны для ионов калия и натрия (рис. 3.6).