

4. Как соотносятся проницаемости мембраны аксона кальмара для различных ионов в покое и при возбуждении?

5. Как изменится вид графика потенциала действия, если поменять химический состав внутри аксона и снаружи: аксоплазму заменить на внеклеточную жидкость, а внеклеточную жидкость – на аксоплазму?

6. Чему равна напряженность электрического поля на мембране в состоянии покоя, если концентрация ионов калия внутри клетки 125 ммоль/л, снаружи – 2,5 ммоль/л, а толщина мембранны 8 нм?

(Ответ:  $1,3 \cdot 10^7$  В/м.)

7. Рассчитайте амплитуду потенциала действия, если концентрация калия и натрия внутри клетки возбудимой ткани соответственно: 125 ммоль/л, 1,5 ммоль/л, а снаружи 2,5 ммоль/л и 125 ммоль/л.

(Ответ: 160 мВ.)

### ТИПОВЫЕ ТЕСТЫ ТЕКУЩЕГО КОНТРОЛЯ

1. Мембранным потенциалом  $\Phi_m$  называется:

1.  $\Phi_m = \Phi_{\text{нап}} - \Phi_{\text{вн}}$
2.  $\Phi_m = \Phi_{\text{вн}} - \Phi_{\text{нап}}$
3.  $\Phi_m = \Phi_{\text{вн}} + \Phi_{\text{нап}}$

2. Диаметр кончика внутриклеточного электрода, используемого для измерения мембранныго потенциала:

1. соизмерим с размером клетки
2. много меньше размеров клетки
3. много больше размеров клетки

## ГЛАВА 4. МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕРАЦИИ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ

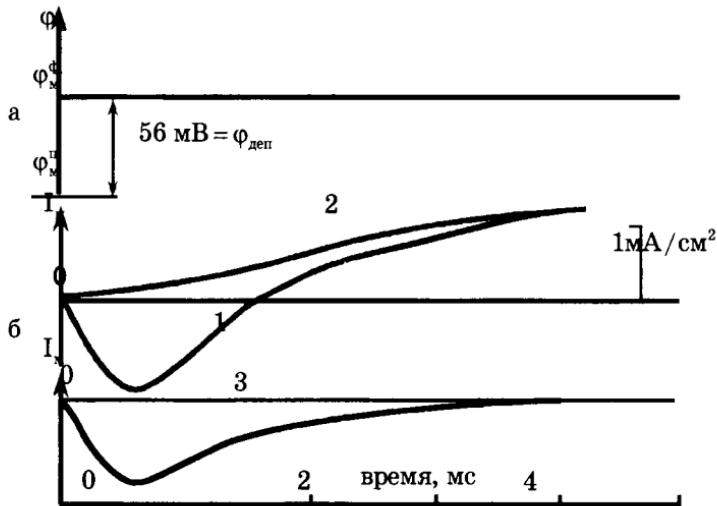
Экспериментальные данные по генерации биопотенциалов и общие принципы возбудимости биологических мембран, изложенные в главе 3, получили математическое описание, биофизическое обоснование и структурную интерпретацию для ряда важных объектов: возбудимых мембран нервных волокон и мембран клеток сердечной мышцы – кардиомиоцитов.

В данной главе рассмотрены математические модели, раскрывающие механизмы генерации биопотенциалов, а также

структура и свойства элементарного проводника в биомембране – ионного канала.

### § 13. Ионные токи в аксоне. Модель Ходжкина-Хаксли

Экспериментальной базой для создания модели генерации потенциала действия явились результаты опытов по разделению ионных токов возбужденного аксона (рис. 4.1).



**Рис. 4.1.** Ионные токи (их плотность) через мембрану аксона кальмара при деполяризации: а – фиксированный потенциал мембранны  $\phi_m^\Phi$ ; б – 1 – суммарный ток, 2 – выходящий наружу ток ионов  $K^+$ , 3 – входящий в клетку ток ионов  $Na^+$

Для разделения токов использовали блокатор натриевого тока – тетродотоксин (ТТХ) и блокатор калиевого тока – тетраэтиламмоний (ТЭА).

Измерение входящих и выходящих токов проводилось в режиме фиксации потенциала. При введении в раствор тетродотоксина регистрировали временную зависимость выходящего тока  $K^+$ ,  $I_k(t)$  (кривая 2, рис. 4.1) при данном фиксированном значении мембранныго потенциала  $\phi_m^\Phi$ :

$$\phi_m^\Phi = \phi_m^n + \Phi_{\text{деп}},$$

где:  $\Phi_{\text{деп}}$  – потенциал деполяризации, который задается схемой фиксации потенциала (рис. 3.4). Затем величину фиксирован-

ного деполяризующего потенциала изменили ступенькой и снова строили кривую  $I_K(t)$  (кривая 2). При действии на мембрану тетрааэтиламмонием регистрировали временную зависимость входящего тока  $\text{Na}^+$ ,  $I_{\text{Na}}(t)$  (кривая 3) при тех же значениях деполяризующего потенциала, что и для калиевого тока.

Семейство кривых для натриевого и калиевого токов в режиме фиксации потенциала для различных значений фиксированного потенциала представлены на рисунке 4.2.

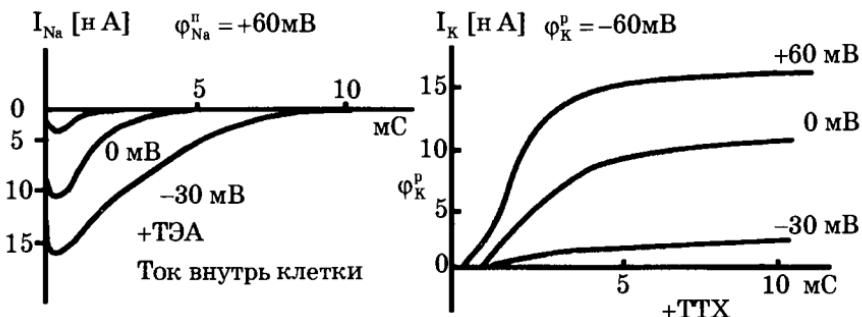


Рис. 4.2. Натриевый (а) и калиевый (б) токи через мембрану миелинизированного аксона лягушки для фиксированных потенциалов для  $\phi_m^\Phi = -30, 0, +30 \text{ мВ}$  для  $I_{\text{Na}}$  и  $\phi_m^\Phi = +60, 0, -30 \text{ мВ}$  для  $I_K$ .

На рис. а) и б) указаны равновесные потенциалы для  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$

Из представленных рисунков следует, что, во-первых: чем ближе смещается  $\phi_m^\Phi$  к значению равновесного потенциала, определяемого по уравнению Нернста (3.2) для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , тем меньше значение соответствующего тока. Так, при стремлении  $\phi_m^\Phi$  к  $+60 \text{ мВ}$  натриевый ток падает до нуля. То же происходит и с калиевым током при достижении  $\phi_m^\Phi$  величины  $-60 \text{ мВ}$ . И во-вторых, меняется временной ход  $I_K$  и  $I_{\text{Na}}$  при изменениях  $\phi_m$ . Так, ток натрия при  $\phi_m^\Phi \rightarrow \phi_{\text{Na}}^p$  быстрее уменьшается до нуля (более 10 мс при  $\phi_m^\Phi = -30 \text{ мВ}$  и около 2 мс при  $\phi_m^\Phi = +30 \text{ мВ}$ ), а у тока калия при  $\phi_m^\Phi$  увеличивается задержка роста.

Таким образом, семейство кривых для токов  $I_K$  и  $I_{\text{Na}}$  при различных значениях фиксированных  $\phi_m$  экспериментально показывает зависимости этих токов и от  $\phi_m$ , и от времени.

Впоследствии по семейству полученных кривых были построены зависимости изменения параметров натриевых и калиевых токов в процессе генерации потенциала действия.

В серии опытов на аксоне кальмара было показано:

1) образование потенциала действия связано с переносом ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  через мембрану;

2) проводимость мембраны для этих ионов меняется в зависимости от величины мембранныго потенциала и времени:

$$g_{\text{Na}}(\phi_m, t), \quad g_{\text{K}}(\phi_m, t).$$

В дальнейшем Ходжкин и Хаксли предложили математическую модель, которая описывала изменения проводимостей, а следовательно, и токов ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  через мембрану в процессе возбуждения.

Основными постулатами этой модели являются:

1) в мембране существуют отдельные каналы для переноса ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ ;

2) во внутренней структуре мембраны существуют некоторые заряженные частицы, управляющие проводимостью каналов. В зависимости от величины напряженности приложенного электрического поля эти гипотетические частицы могут передвигаться в мембране, и тем самым увеличивать или уменьшать потоки ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  через каналы.

Предполагается, что ионы калия могут проходить через канал, если к его участку под действием электрического поля поступят одновременно четыре однозарядные частицы. Обозначим  $n$  – вероятность подхода одной такой частицы. Тогда проводимость ионов калия:

$$g_{\text{K}} = \bar{g}_{\text{K}} \cdot n^4, \quad (4.1)$$

где  $\bar{g}_{\text{K}}$  – максимальная проводимость канала для ионов  $\text{K}^+$ . Четвертая степень при  $n$  определялась эмпирически. Величина  $n^4$  объяснялась как вероятность нахождения одновременно четырех активирующих частиц в некотором определенном участке мембраны.

Изменение проводимости для ионов  $\text{Na}^+$  описывалось более сложным выражением. Для натриевого канала предполагалось, что он открывается, если одновременно в данный участок попадают три активирующие частицы и удаляется одна блокирующая. Тогда, обозначив  $m$  – вероятность прихода активирующей частицы, а  $h$  – вероятность удаления блокирующей, получаем:

$$g_{\text{Na}} = \bar{g}_{\text{Na}} \cdot m^3 h, \quad (4.2)$$

где  $\bar{g}_{\text{Na}}$  – максимальная проводимость канала для ионов  $\text{Na}^+$ .

Здесь введены два типа частиц, активирующие и блокирующие, так как натриевый ток в условиях фиксированного потенциала (рис. 4.1 кривая 3) сначала нарастает до максимума – активация, а затем уменьшается до 0 – инактивация. Степени при  $n$  и  $h$  также подбирались эмпирически, чтобы наилучшим образом описать кинетику токов. Численные значения  $n$ ,  $m$  и  $h$  имеют смысл вероятности нахождения соответствующей частицы в данном месте канала, а величины их могут меняться от 0 (отсутствие частицы) до 1 (нахождение ее в заданном месте).

Кинетика перераспределения частиц через мембрану при действии электрического поля описывается системой однотипных уравнений.

Так, для калиевого канала уравнение кинетики записывается в виде:

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1-n) - \beta_n n, \quad (4.3)$$

где  $\alpha_n$  и  $\beta_n$  – константы скорости пересека частицы, активирующей калиевый канал, к нему и от него соответственно.

Константы скорости  $\alpha_n$  и  $\beta_n$  являются функциями мембранных потенциала,  $\alpha_n = \alpha_n(\phi_m)$ ,  $\beta_n = \beta_n(\phi_m)$ . Если мембранный потенциал скачком увеличивать от значения  $\phi_m$  покоя до некоторого значения  $\phi_m = \phi$ , то вероятность открытого состояния калиевого канала описывается уравнением:

$$n(t) = n_\infty - (n_\infty - n_0)e^{-t/\tau}, \quad (4.4)$$

где постоянная времени

$$\tau = \frac{1}{\alpha_n + \beta_n}. \quad (4.5)$$

Для стационарного состояния  $dn/dt = 0$  значение  $n_\infty$  с учетом (4.3) имеет вид:

$$n_\infty = \frac{\alpha_n}{\alpha_n + \beta_n}. \quad (4.6)$$

При потенциале покоя  $\alpha_n = 0$ , то есть  $n_0 = 0$ , тогда для начальных условий: при  $t = 0 n(0) = 0$  – канал закрыт, при  $t = \infty$  состояние ионного канала определяется значением  $n_\infty$ , функция  $n(t)$  имеет вид:

$$n(t) = n_{\infty} (1 - e^{-t/\tau}) .$$

Кинетические уравнения для параметров  $m$  и  $h$  аналогичны уравнениям (4.3) – (4.6) с учетом иных величин констант  $\alpha_m$ ,  $\beta_m$  для активирующих частиц и  $\alpha_h$ ,  $\beta_h$  – для инактивирующей частицы натриевого канала.

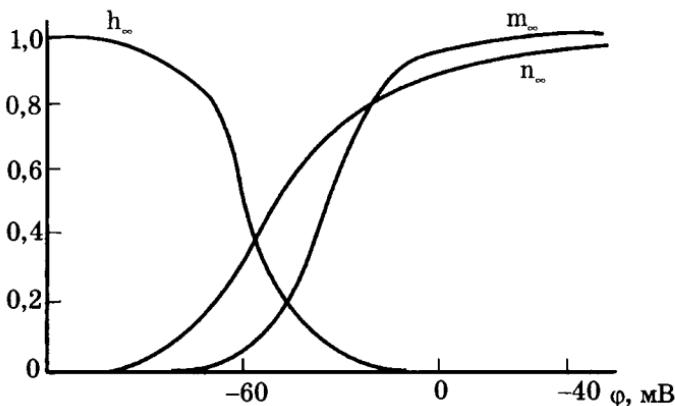


Рис. 4.3. Зависимости стационарных значений параметров  $\text{Na}^+$ -канала  $n_{\infty}$ ,  $m_{\infty}$  и  $h_{\infty}$  от мембранныго потенциала

Для описания ионных токов при возбуждении аксона (3.8) с учетом зависимостей  $g_{\text{Na}}(\phi_M)$  и  $g_K(\phi_M)$  были подобраны функции  $\alpha(\phi_M)$  и  $\beta(\phi_M)$  для  $n$ ,  $m$  и  $h$  параметров и построены зависимости стационарных значений  $n_{\infty}$ ,  $m_{\infty}$  и  $h_{\infty}$  для различных величин мембранныго потенциала, представленные на рис. 4.3.

Уравнение (3.8) с учетом (4.1) и (4.2) теперь можно представить в виде:

$$\begin{aligned} I_m = C_m \frac{d\phi_m}{dt} + \bar{g}_K n^4 (\phi_m - \phi_K^p) + \bar{g}_{\text{Na}} m^3 h (\phi_m - \phi_{\text{Na}}^p) + \\ + g_{\text{yt}} (\phi_m - \phi_{\text{yt}}^p). \end{aligned} \quad (4.7)$$

Для моделирования изменений, после скачка напряжения, калиевых и натриевых токов, изображенных на рис. 4.2, в уравнение (4.7) были представлены значения  $\phi_m$  и решения уравнений типа (4.4) для каждого из  $n$ ,  $m$  и  $h$  параметров.

Для расчета формы потенциала действия необходимо было решить существенно более сложную систему уравнений: уравнения для мембранныго тока (4.7), три уравнения типа (4.3) для  $n$ ,  $m$  и  $h$  параметров, в которых коэффициенты  $\alpha_n$ ,  $\beta_n$ ,  $\alpha_m$ ,  $\beta_m$  и

$\alpha_h$ ,  $\beta_h$  являются сложными, эмпирически подобранными функциями мембранного потенциала ( $\phi_M$ ), и так называемое кабельное уравнение, описывающее изменение трансмембранных тока вдоль аксона.

Ходжкин и Хаксли решили эту задачу и получили форму потенциала действия и скорость его распространения по аксону, которые совпадали с экспериментом с точностью до 10 %.

Таким образом, исходя из выбранных предположений и эмпирически подобранных констант, Ходжкин и Хаксли обосновали ионную теорию возбудимых мембран и смогли удовлетворительно описать в рамках этой теории изменение ионной проводимости и процесс генерации потенциала действия нервной клетки. Модель Ходжкина–Хаксли не объясняла природу активирующих и блокирующих частиц и механизм их влияния на проводимость ионного канала.

Физическая интерпретация модели Ходжкина–Хаксли требовала наличия внутри мембраны некоторых заряженных частиц, причем эти частицы должны передвигаться в зависимости от внешнего электрического поля. Таким образом, для подтверждения второго постулата модели необходимо было зарегистрировать перемещения заряженных частиц внутри мембраны при изменении мембранного потенциала, то есть зарегистрировать так называемые воротные токи. Трудность обнаружения воротных токов заключалась в том, что активирующих частиц внутри мембраны очень мало и, следовательно, мало значение воротного тока по сравнению с ионными токами, проходящими через мембрану.

Для обнаружения воротных токов с помощью блокаторов ТTX и ТЭА, а также заменой ионов  $Na^+$  в наружном растворе на ионы триса, исключали ионные токи; затем ступеньками меняли напряжение на мемbrane и регистрировали появление воротного тока натриевого канала, который оказался в  $10^3$  раз слабее натриевого тока.

Изменение во времени воротного тока в аксоне кальмара было взаимосвязано с изменением натриевого тока. Таким образом на опыте было показано существование воротных токов, предсказанных в модели Ходжкина–Хаксли.

## § 14. Ионные каналы клеточных мембран

Модель возбудимой мембраны по теории Ходжкина–Хаксли предполагает регулируемый перенос ионов через мембрану. Однако непосредственный переход иона через липидный бислой