

**Биопотенциал. Его физиологическое значение.**  
**Биофизика нервного импульса. Синаптическая  
передача.**

Генерация и распространение электрических потенциалов лежит в основе:

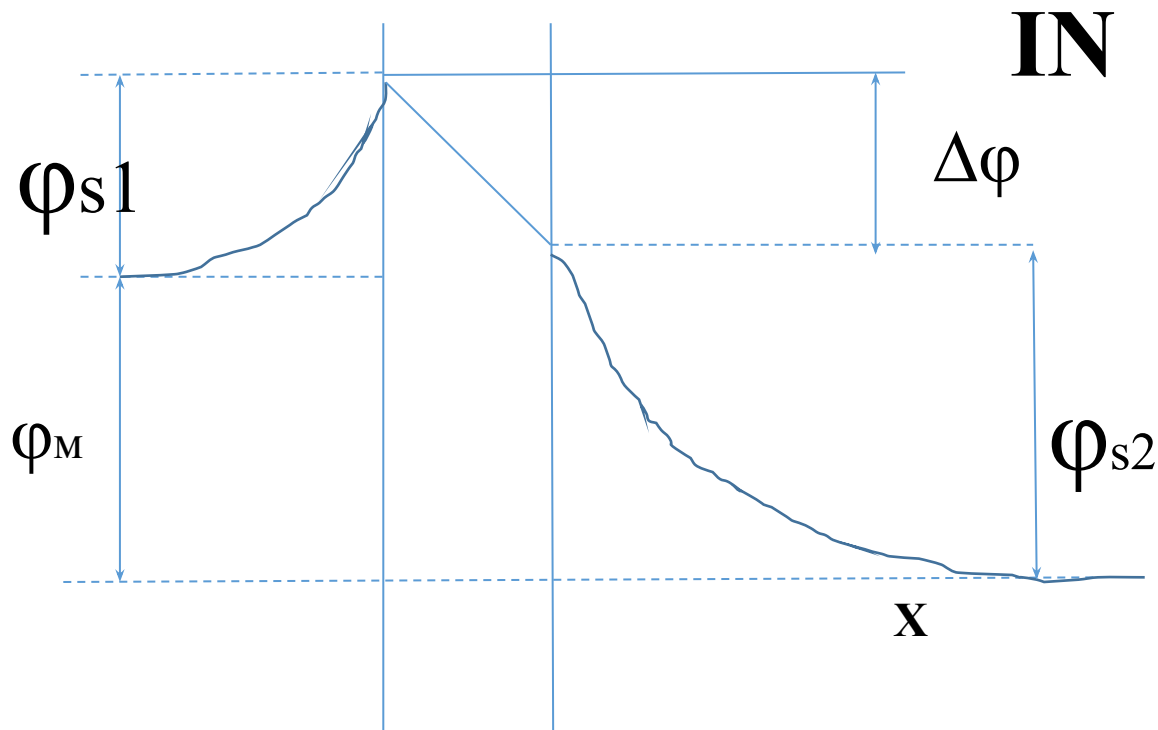
- 1) регуляции внутриклеточных процессов;
- 2) генерации и распространению нервных импульсов;

**Изучение клеточных потенциалов стало возможным благодаря созданию устройств, обладающих:**

- 1) очень большим входным сопротивлением (до  $10^{10}$  Ом);**
- 2) малой постоянной времени (от 10 мс);**
- 3) высокой чувствительностью (до  $10^{12}$  А).**

# Мембранные потенциалы

OUT



IN

$\Phi_{s1}$  и  $\Phi_{s2}$  – разности потенциалов между мембраной и окружающей средой по обе стороны мембраны.  
 $\Delta\phi$ -изменение потенциала внутри мембраны.

$\Phi_M$ - разность потенциалов между водными фазами по обе стороны мембраны.

По мере удаления от границы мембраны и окружающей среды поверхностные потенциалы ослабевают, главным образом, из-за экранировки слоем ионов.

$$\phi = \phi_0 e^{-x/b}$$

где  $\phi_0$  – потенциал на границе,  $b$  – радиус экранировки Дебая – расстояние, на котором  $\phi$  уменьшается в  $e$  раз.

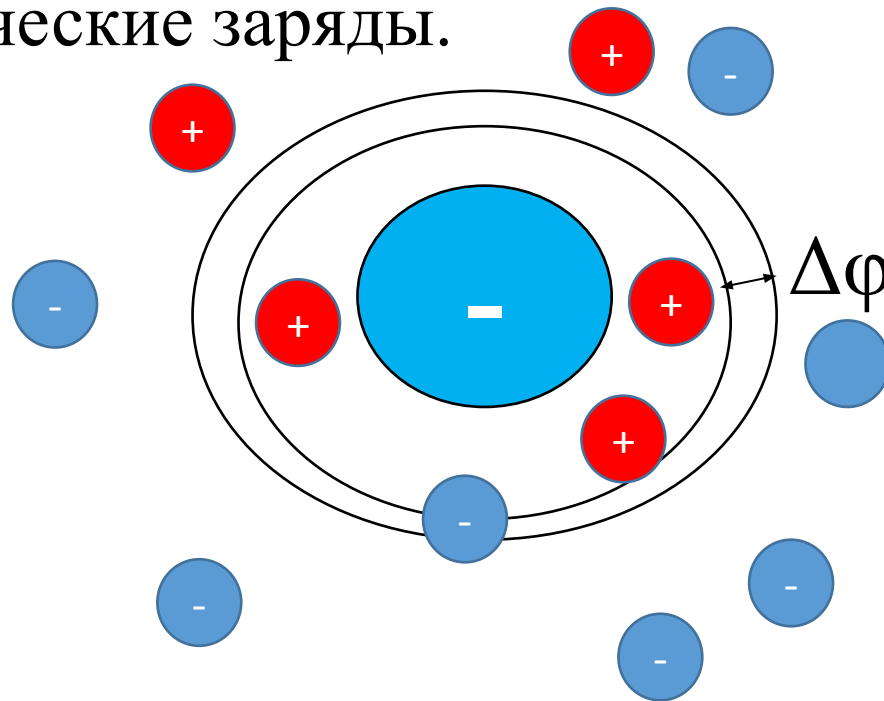
$$b = \sqrt{RT\epsilon\epsilon_0 / F^2 \sum_j z_j^2 c_j}$$

где  $z_j$  – заряд каждого иона,  $c_j$ -молярная концентрация.  
Для 150 мМ раствора NaCl при  $\epsilon=80$   $b=0,8$  нм, то есть десятая часть толщины мембраны.

В мембране концентрация ионов низкая, и радиус экранировки исчисляется сотнями нанометров.

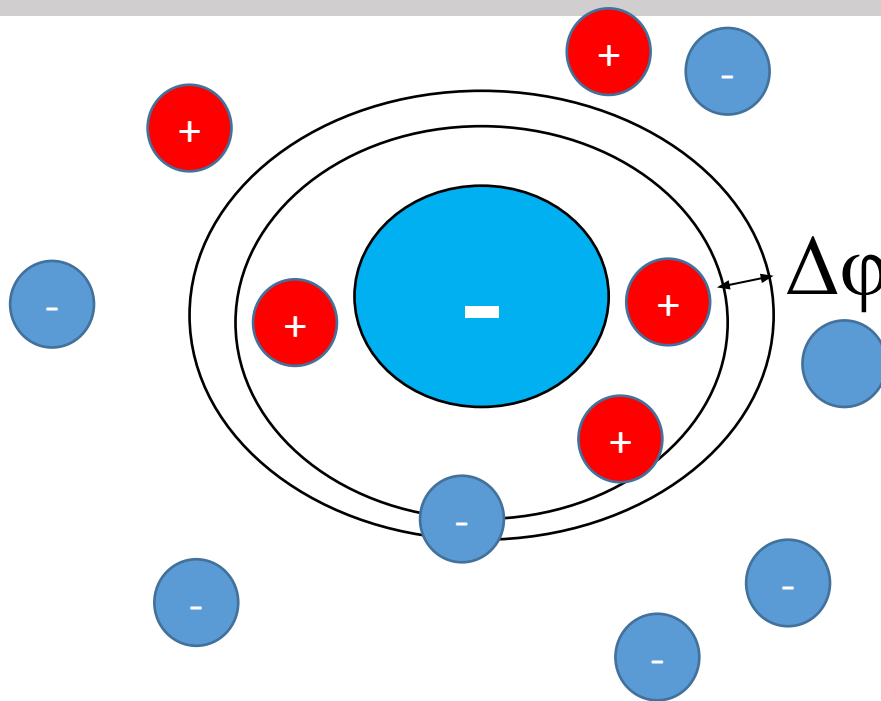
# Донановское равновесие и потенциал Донана.

Устанавливается между клеткой и окружающей средой, при условии, что мембрана проницаема для мелких неорганических ионов, но непроницаема для органических молекул, также несущих на себе электрические заряды.



# Донановское равновесие и потенциал Донана.

В основе представления о равновесном потенциале такой системы лежит представление о равенстве зарядов ионов, находящихся как внутри так и вне клетки. Если предположить, что неорганические ионы, в основном, одновалентные, а органические молекулы несут на своей поверхности, в основном, отрицательные заряды ( $nP^-$ ), то:  
 $[K_o^+] = [A_o^-]$ ;  $[K_i^+] = [A_i^-] + n[P^-]$ , поскольку снаружи нет макромолекул, несущих заряды.



# Донановское равновесие и потенциал Донана.

$$[K_o^+] = [A_o^-] = C_o; [K_i^+] = [A_i^-] + n[P^-i].$$

По уравнению Нернста разность потенциалов между внутри- и внеклеточной средой  $\Delta\phi = RT/zF \bullet \ln([K_o^+]/[K_i^+]) = RT/zF \bullet \ln([A_i^-]/[A_o^-])$

Выражение  $\psi = \phi \bullet (zF/RT)$  называется безразмерный потенциал.

$$\Psi = \ln([K_o^+]/[K_i^+]) = \ln([A_i^-]/[A_o^-]).$$

Следовательно,  $[K_o^+]/[K_i^+] = [A_i^-]/[A_o^-] = e^\Psi$

Тогда  $[K_i^+] = [K_o^+] e^{-\Psi} = C_o e^{-\Psi}$ ,  $[A_i^-] = [A_o^-] e^\Psi = C_o e^\Psi$ ,

Так как  $[K_i^+] = [A_i^-] + n[P^-i]$ , то  $C_o e^{-\Psi} = C_o e^\Psi + n[P^-i]$

Поскольку  $[K_o^+] = [A_o^-]$  (обозначим их как  $[C_o]$  – молярная концентрация электролитов во внешней среде),  $n[P^-i] = C_o (e^{-\Psi} - e^\Psi)$ .

При  $(e^{-\Psi} - e^\Psi) \ll 1$ , последнее приблизительно равно  $2\Psi$ .

$$\text{Тогда } \psi = n[P^-i]/2C_o$$

## Донановское равновесие и потенциал Донана.

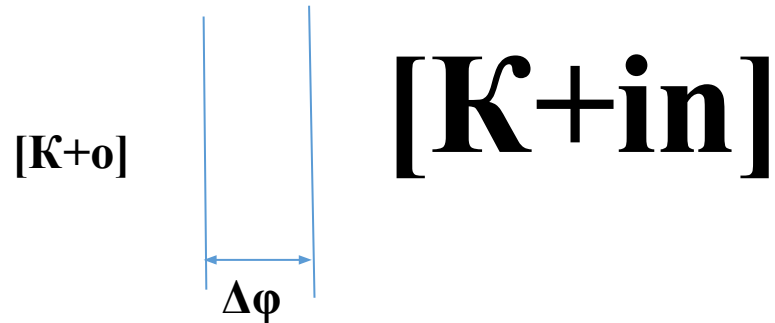
$$\psi = n[P^-]_i / 2C_o \quad \varphi = RT/zF \cdot n[P^-]_i / 2C_o$$

Донановский потенциал прямо пропорционален концентрации белков в клетке и обратно пропорционален концентрации электролита вне клетки.

При  $[C_o]=150\text{мМ}$ ,  $n=15$  и  $[P^-]_i=1,0\text{ мМ}$   $\varphi = - 1,4\text{ мВ}$ ,  
что не сравнимо с реальным потенциалом покоя  
большинства клеток:  $-60 - -90\text{ мВ}$ .



# Равновесный потенциал.



$$\Delta\phi = RT/zF \cdot \ln([K+o]/ [K+in])$$

Согласно гипотезе, выдвинутой в 1902 году Бернштейном, Потенциал покоя обусловлен тем, что имеет место разная концентрация калия по обе стороны мембраны. Калий перераспределяется между внешней и внутренней сторонами мембраны, в результате чего на мембране возникает потенциал, описываемый уравнением Нернста. Но экспериментальные данные показали расхождение с расчетными при малых концентрациях калия вне клетки, соответствующих реальным (единицы миллимоль).

# Стационарный потенциал.

Ходжкин, Хаксли и Катц исходили из того, что потенциал покоя не равновесный, а стационарный. То есть является результатом динамического равновесия непрерывно идущих встречных потоков различных ионов. Эти потоки вызывают изменение потенциала на мембране:

$d\phi/dt=j/C$ . Изменение происходит до тех пор, пока возникший потенциал не остановит (не уравнивает) потоки. Это не значит, что не будет никакого движения через мембрану, а это значит, что потоки друг друга уравнивают, и суммарный поток (катионов и анионов) будет равен нулю:

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

Этот стационарный потенциал, если предполагать, что в его образовании принимают участие, главным образом,

ионы калия, натрия и хлора, равен:

$$\Delta\phi = RT/zF \cdot \ln(P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o + P_{Cl} [Cl^-]_{in} / P_K [K^+]_{in} + P_{Na} [Na^+]_{in} + P_{Cl} [Cl^-]_o),$$

Где P-проницаемость для соответствующего иона.  $P=D\beta/d$ , где D – коэффициент диффузии,  $\beta$  – коэффициент распределения вещества между водным раствором и мембраной, d – толщина мембраны.

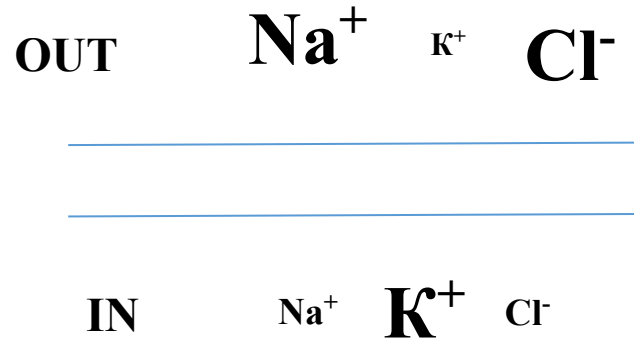
В гигантском аксоне кальмара  $P_K:P_{Na}:P_{Cl} = 1:0,04:0,045$

**Концентрация ионов (мМ/л) и разность потенциалов между двумя сторонами клеточной мембраны в состоянии покоя (из Волькенштейн М.В. Биофизика, М. Наука, 1981).**

	$[Na^+_o]$	$[K^+_o]$	$[Cl^-_o]$	$[Na^+_{in}]$	$[K^+_{in}]$	$[Cl^-_{in}]$	$\Delta\phi$ , мВ
Мышцы лягушки	120	2,5	120	9,2	140	3-4	-90
Аксон кальмара	460	10	540	50	400	40-100	-60

**Эксперименты с радиоактивными изотопами показали, что ионные потоки через мембрану непрерывны, а равновесие имеет динамический характер.**

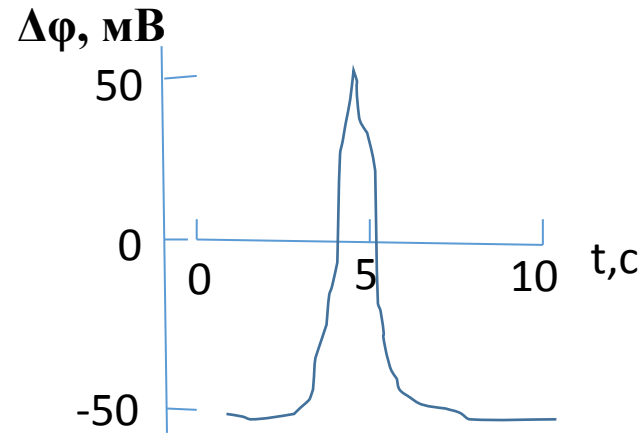
**Равновесные Нернстовские потенциалы для ионов натрия, калия и хлора в состоянии покоя.  $\Delta\phi = RT/zF \cdot \ln [\text{Э}_{out}]/[\text{Э}_{in}]$**



Объект	Равновесный Нернстовский потенциал, мВ		
	$\text{K}^+$	$\text{Na}^+$	$\text{Cl}^-$
Мышцы лягушки	-98	+49	-105
Аксон кальмара	-90	+46	-29

Таким образом, Нернстовский потенциал, создающийся на мембране в силу действия  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  АТФ-азы и различных значений проницаемости для различных ионов положителен только для натрия. Основной вклад в генерацию потенциала покоя действительно вносят ионы калия.

## Потенциал действия



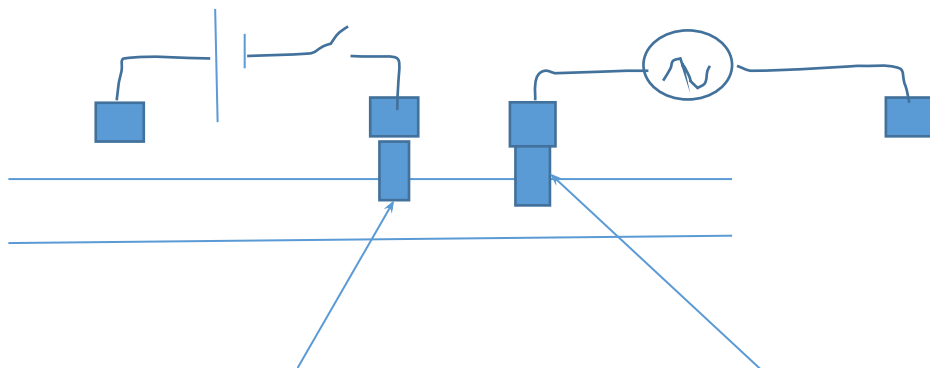
При возбуждении нервных клеток, клеток мышц происходит резкое изменение потенциала между внутриклеточной и наружной средой. Потенциал меняет знак и становится положительным. Этот потенциал называют потенциалом действия. Через определенное время потенциал возвращается к исходному значению.

Это изменение потенциала распространяется по нервному волокну в обе стороны как затухающее колебание.

Было установлено, что электропроводность мембраны резко возрастает при распространении потенциала действия.

## Потенциал действия

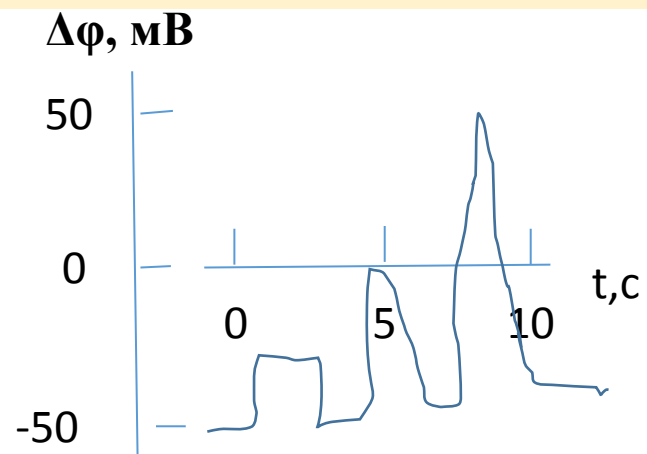
В изучении ПД большой вклад внесли работы на гигантском аксоне кальмара. Он достаточно крупный, чтобы было возможно введение электрода внутрь аксона.



Первый электрод – для стимуляции, второй – для измерения потенциала

# Потенциал действия

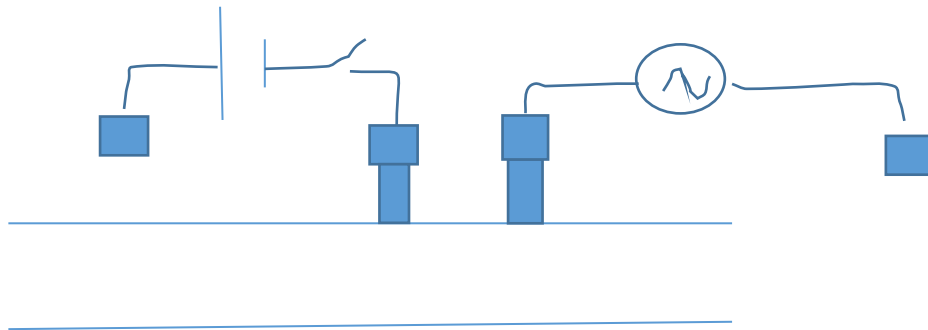
Величина ПД не зависит от величины стимулирующего тока и ПД не возникает, если электрический стимул не достигнет некоторого порогового значения. Но величина ПД не зависит от величины возбуждающего сигнала.



# Потенциал действия

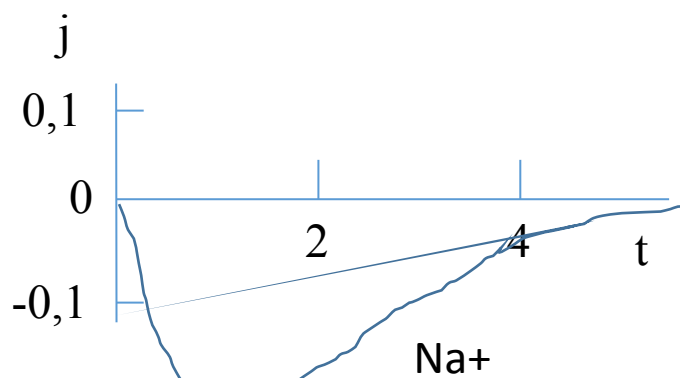
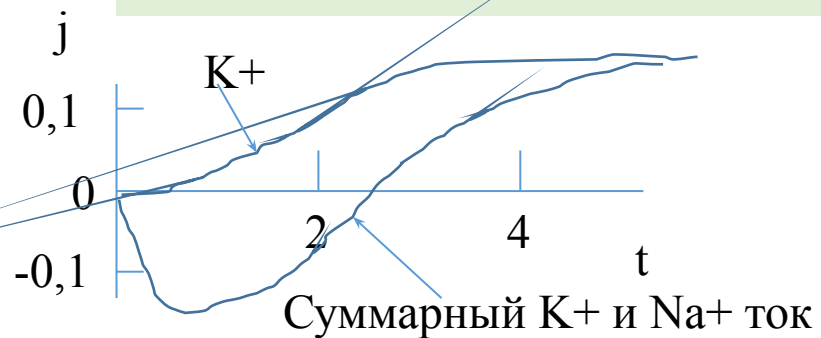
За счет каких процессов происходит изменение потенциала при прохождении ПД? Эксперименты с радиоактивными изотопами  $^{42}\text{K}$  и  $^{24}\text{Na}$  показали, что в момент прохождения ПД (Спайка) происходит интенсивный перенос ионов натрия и калия через мембрану.

Положительный потенциал может быть создан только в результате потока ионов натрия. Расчеты показали, что при прохождении одного импульса через каждый квадратный микрон поверхности волокна проходит ок. 20000 ионов натрия и калия. Но проследить за изменением проницаемости мембран в ходе развития ПД сложно технически, поскольку: 1) ПД протекает за 1-2 мс.; 2) при возбуждении мембраны ее сопротивление быстро изменяется, что приводит к перераспределению разности потенциалов между элементами электрической цепи, включающей саму мембрану, источник и измерительный прибор. В связи с этим Ходжкин, Хаксли и Катц применили устройство, поддерживающее потенциал на мембране постоянным.





## Потенциал действия



Плотность тока через мембрану измеряли при постоянном мембранном потенциале. За + принимался ток из клетки, за – ток в клетку.

После того, как на мембране потенциал был скачком изменен на +56мВ, регистрировался ток внутрь волокна. Его плотность постепенно снижается и меняет направление (суммарный ток).

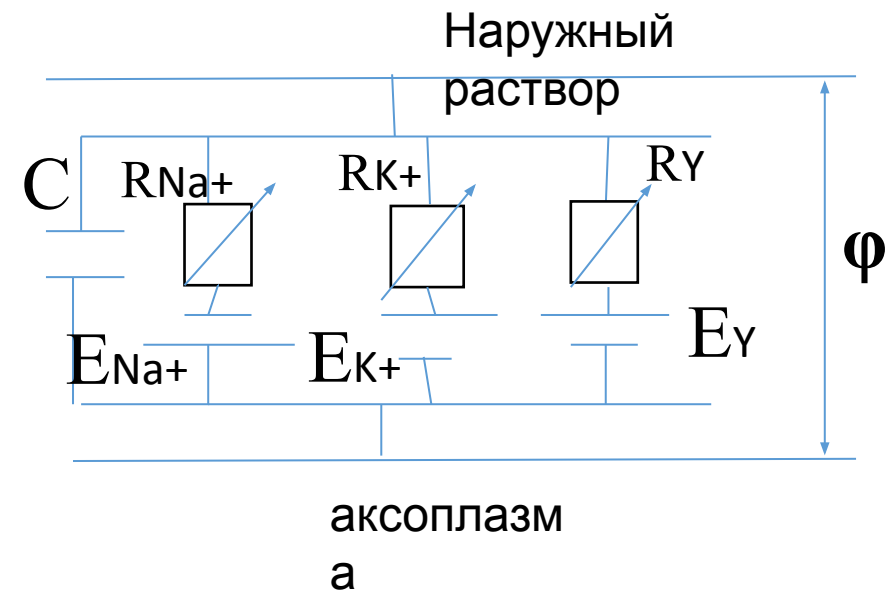
Если в растворе, омывающем волокно, заменить натрий на другой ион, входящий ток исчезал. Регистрировался только выходящий ток, обусловленный выходом калия из клетки ( $K^+$ ).

Разница между суммарным и калиевым током обусловлена входящим током ионов натрия ( $Na^+$ ).

Так как потенциал на мембране поддерживался постоянным, то очевидно, что приведенные кривые отражают изменение проницаемости мембраны для ионов.

Ходжкин предположил, что под действием деполяризующего потенциала открываются предполагаемые активационные ворота для натрия. Через какое-то время они инактивируются. Наступает рефрактерный период, на время которого генерация очередного ПД невозможна. Это связывают с потерей каналами на какое-то время способности к открытию.

## Распространение потенциала действия по нервному волокну.

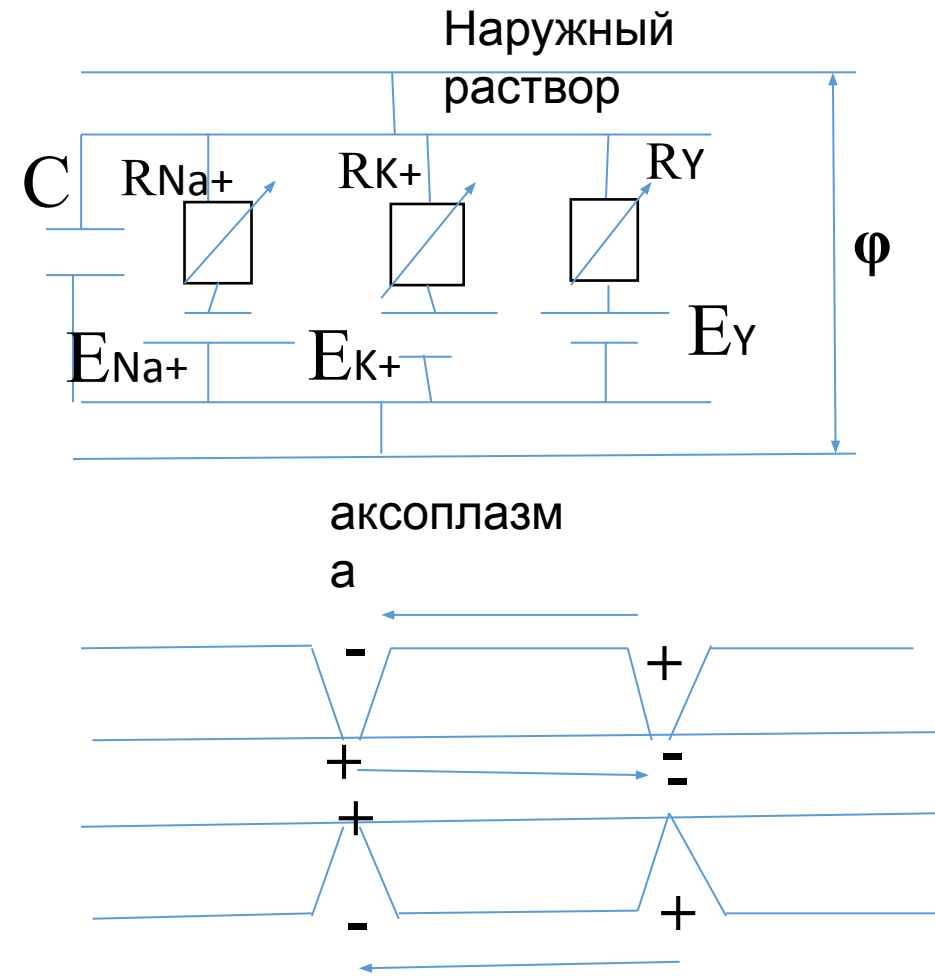


Удельное сопротивление аксоплазмы равно  $10-100 \text{ Ом}\cdot\text{см}$ . Удельное сопротивление волокна диаметром  $1 \text{ мкм}$  составляет  $10^9-10^{10} \text{ Ом}\cdot\text{см}$ . Удельное сопротивление, в основном, обусловлено липидным бислоем. Но аксон передает импульс на несколько метров без затухания и искажения. Если бы проведение нервного импульса было связано с его передачей вдоль по аксоплазме, то регистрировался бы ток в аксоплазме, а не ионные потоки внутрь и вовне аксона.

Распространению ПД по волокну больше всего соответствует приведенная электрическая схема-аналог.  $E_{K^+}$ ,  $E_{Na^+}$ ,  $E_{\gamma}$  – “батареи”, обуславливающие движение ионов натрия, калия и других. Сегмент аксона обладает емкостью  $C$ , обусловленной липидным бислоем. Падение сопротивления  $R_{Na^+}$ , обуславливает перераспределение потенциала  $\phi$  и изменение ионных токов. Таким образом, вдоль аксона запускается процесс изменения потенциала и интенсификации ионных токов наружу и внутрь.

Если в состоянии покоя  $R_K:P_{Na}:P_{Cl} = 1:0,04:0,045$ , то в состоянии возбуждения  $R_K:P_{Na}:P_{Cl} = 1:20:0,045$

# Распространение потенциала действия по нервному волокну.

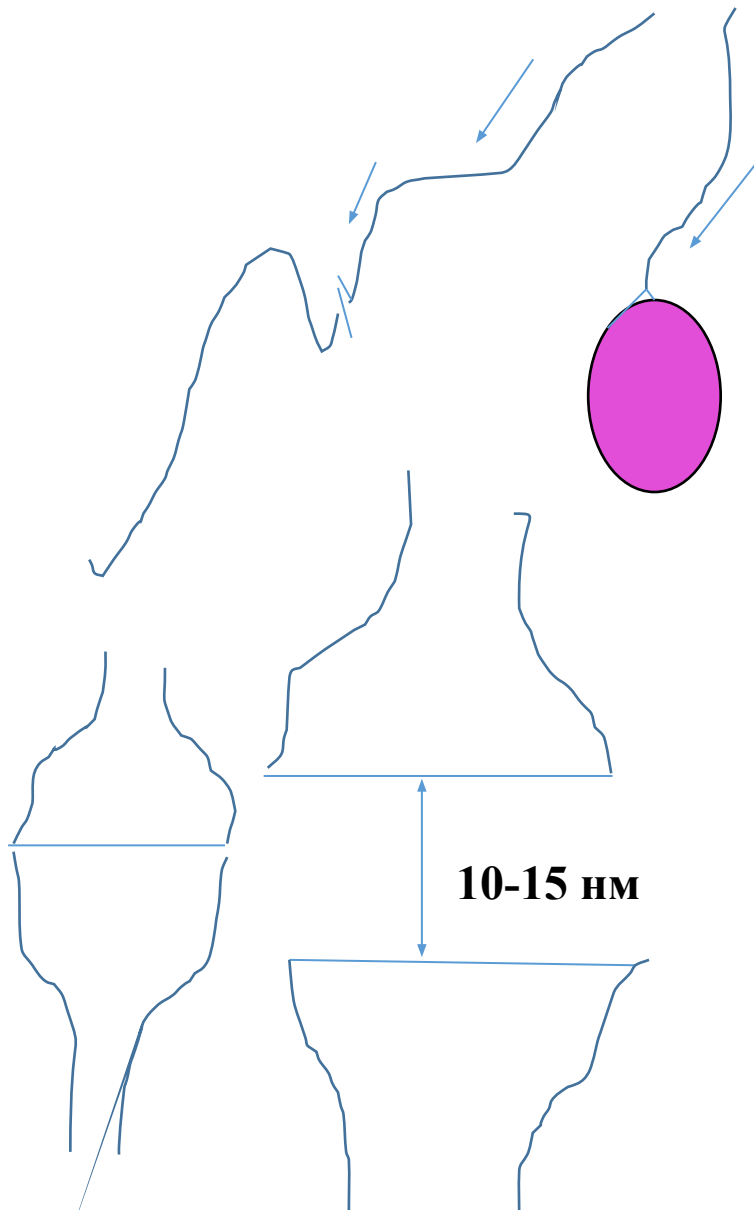


Для скорейшего распространения импульса по волокну необходимо минимизировать влияние среды, богатой ионами, что способствует снижению  $\Delta\phi$ .

Это возможно достичь двумя путями: увеличением сопротивления внешней оболочки, либо увеличением диаметра волокна. Второй путь реализуется в аксоне кальмара, имеющего диаметр до нескольких миллиметров.

У высших животных крупные нервы имеют миелиновую оболочку. Она имеет малую емкость. Обмен ионами с окружающей средой обеспечивается только в перехватах Ранвье. Проведение импульса идет путем перескока от одного перехвата к другому.

## Синаптическая передача.



Когда импульс достигает окончания нервного волокна, он либо переходит на другое волокно, либо на нервно-мышечное соединение. В обоих случаях реализуется синаптическая передача импульса.

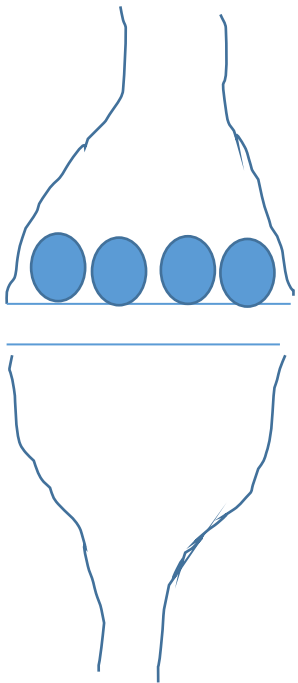
Синапс есть функциональный межмембранный контакт двух возбудимых клеток. Расстояние между пресинаптической и постсинаптической мембраной – синаптическая щель, может достигать 10-15 нм. В мионевральном соединении – до 50-100 нм. Также есть синапсы с сильно сближенными и даже сливающимися пре- и постсинаптическими мембранами. Им соответствуют два типа передачи импульса: химический тип, и прямое электрическое взаимодействие.

Электрическое взаимодействие обеспечивает наиболее быструю передачу импульса, химическое – более избирательную, и возможность более гибкой регуляции постсинаптического потенциала.

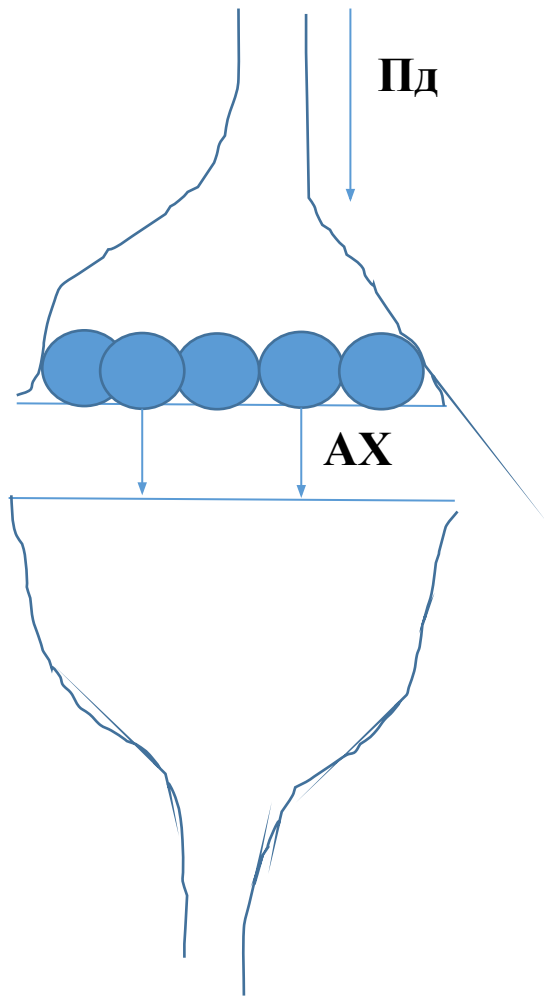
# Синаптическая передача.

Электрические синапсы - это прямые ионпроводящие соединения клеток посредством каналов (коннексонов) в области так называемых щелевых контактов. Они отвечают за проведение импульсов между соседними гладкими или сердечными мышечными волокнами (а кое-где и между нейронами - в сетчатке глаза и в ЦНС), а также обеспечивают коммуникационные функции между соседними эпителиальными или глиальными клетками. В химических синапсах для передачи информации используются нейромедиаторы (нейротрансмиттеры). Они не только обеспечивают связь в нервной системе, но также служат переключательными элементами. Они могут ускорять или тормозить передачу информации нейроном или передавать ее вместе с другим входящим сигналом.

В химическом синапсе потенциал действия запускает высвобождение медиаторов из пресинаптических терминалей аксона. Затем медиатор диффундирует через узкую синаптическую щель (~ 30 нм), чтобы связаться с рецепторами на пресинаптической мембране нейрона, мышечной или секреторной клетки. В зависимости от типа рецептора и медиатора эффект на постсинаптическую мембрану может быть возбуждающим или тормозным.

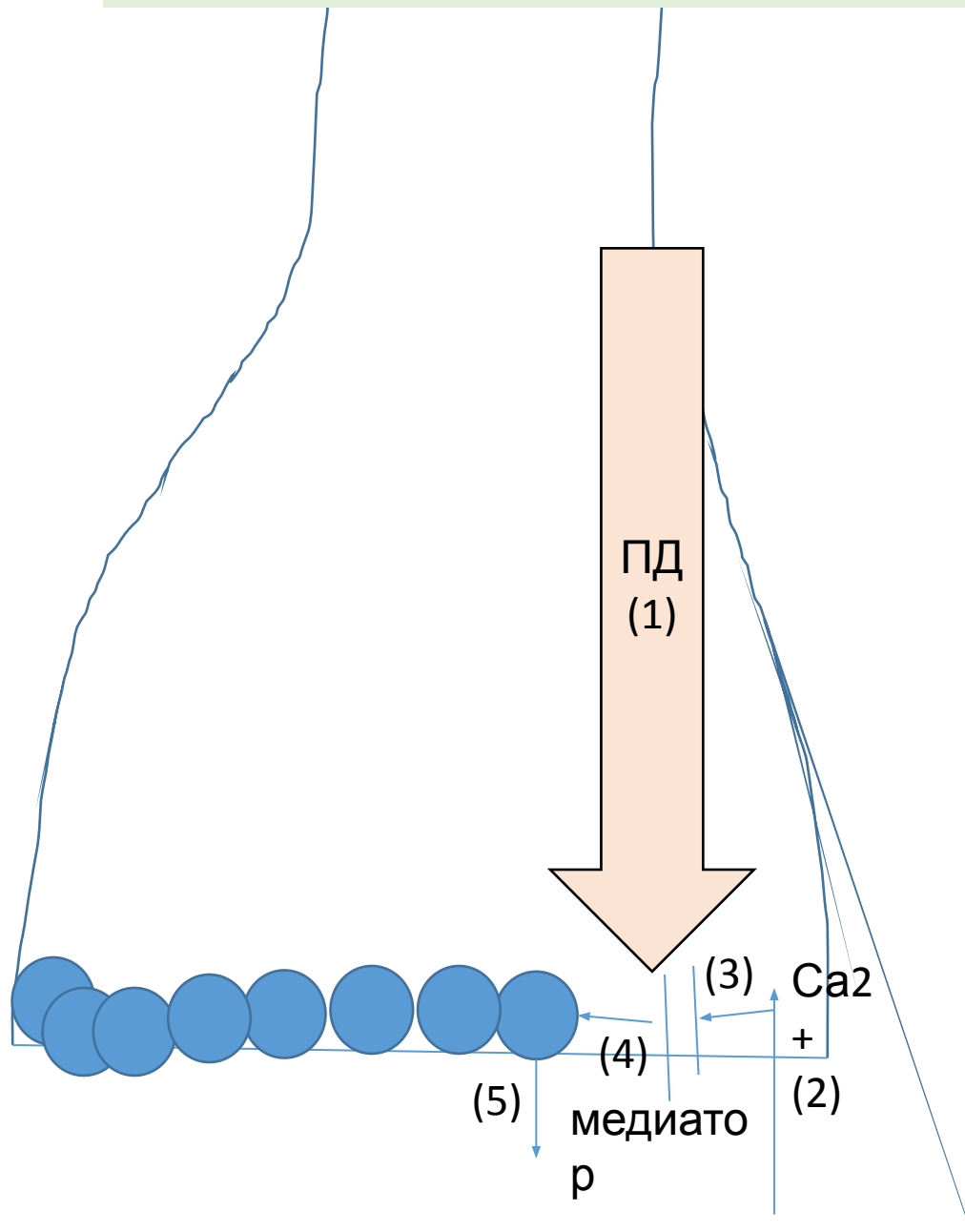


## Синаптическая передача.

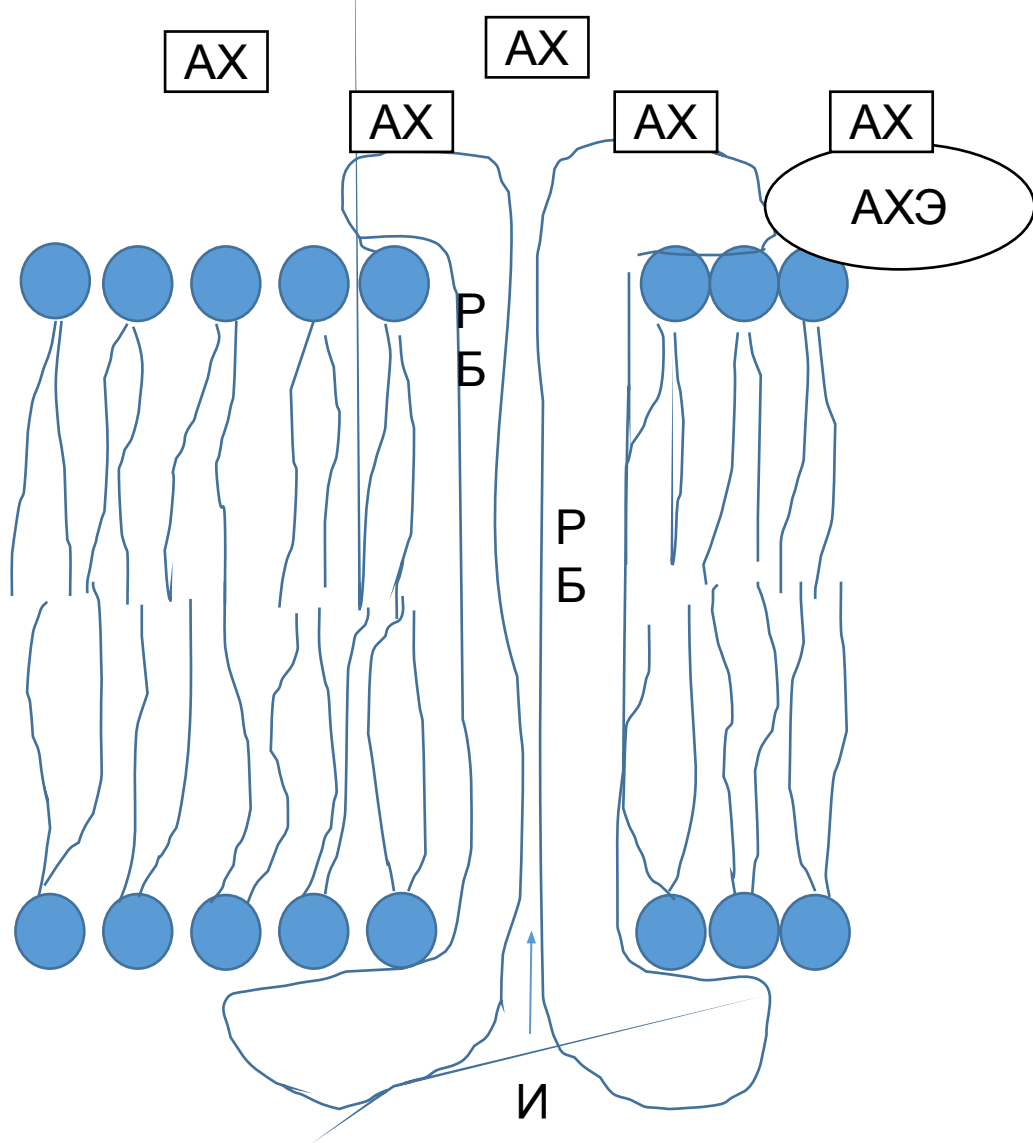


Медиаторы высвобождаются путем регулируемого экзоцитоза так называемых синаптических пузырьков. Каждый пузырек содержит некоторое количество («квант») нейромедиатора. В случае двигательной концевой пластинки высвобождается около 7000 молекул ацетилхолина (АХ). Некоторое количество пузырьков, готовых к высвобождению содержимого, скапливается у мембраны в активной зоне. Поступающий потенциал действия служит сигналом для высвобождения нейромедиатора. Чем выше частота потенциала действия в аксоне, тем больше пузырьков высвобождают свое содержимое.

# Пресинаптическая мембрана



Потенциал действия (1) повышает вероятность открывания потенциалзависимых Ca<sup>2+</sup>-каналов в пресинаптической мембране, приводя к увеличению концентрации Ca<sup>2+</sup> в цитоплазме (2). Внеклеточный Mg<sup>2+</sup> ингибирует этот процесс. Ca<sup>2+</sup> связывается с синаптотагмином (3), который запускает взаимодействие синтаксина и SNAP-25 на пресинаптической мембране с синаптобrevином на мембране пузырьков (4), запуская экзоцитоз уже заякоренных пузырьков (примерно 100 на один потенциал действия).

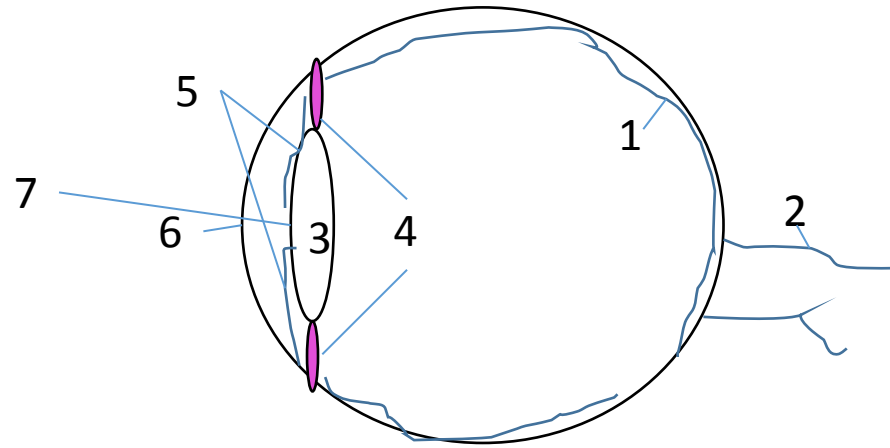


## Постсинаптическая мембрана

Постсинаптическая мембрана содержит рецепторный белок (РБ), пронзающий мембрану насквозь. РБ специфически связывает молекулу медиатора (АХ). В основе связывания диполь-дипольные взаимодействия. В результате РБ изменяет конформацию, открываются ионные каналы, что влечет деполяризацию мембраны, генерацию ПД. Молекулы медиатора претерпевают химическую деструкцию под действием специфического фермента (АХЭ).

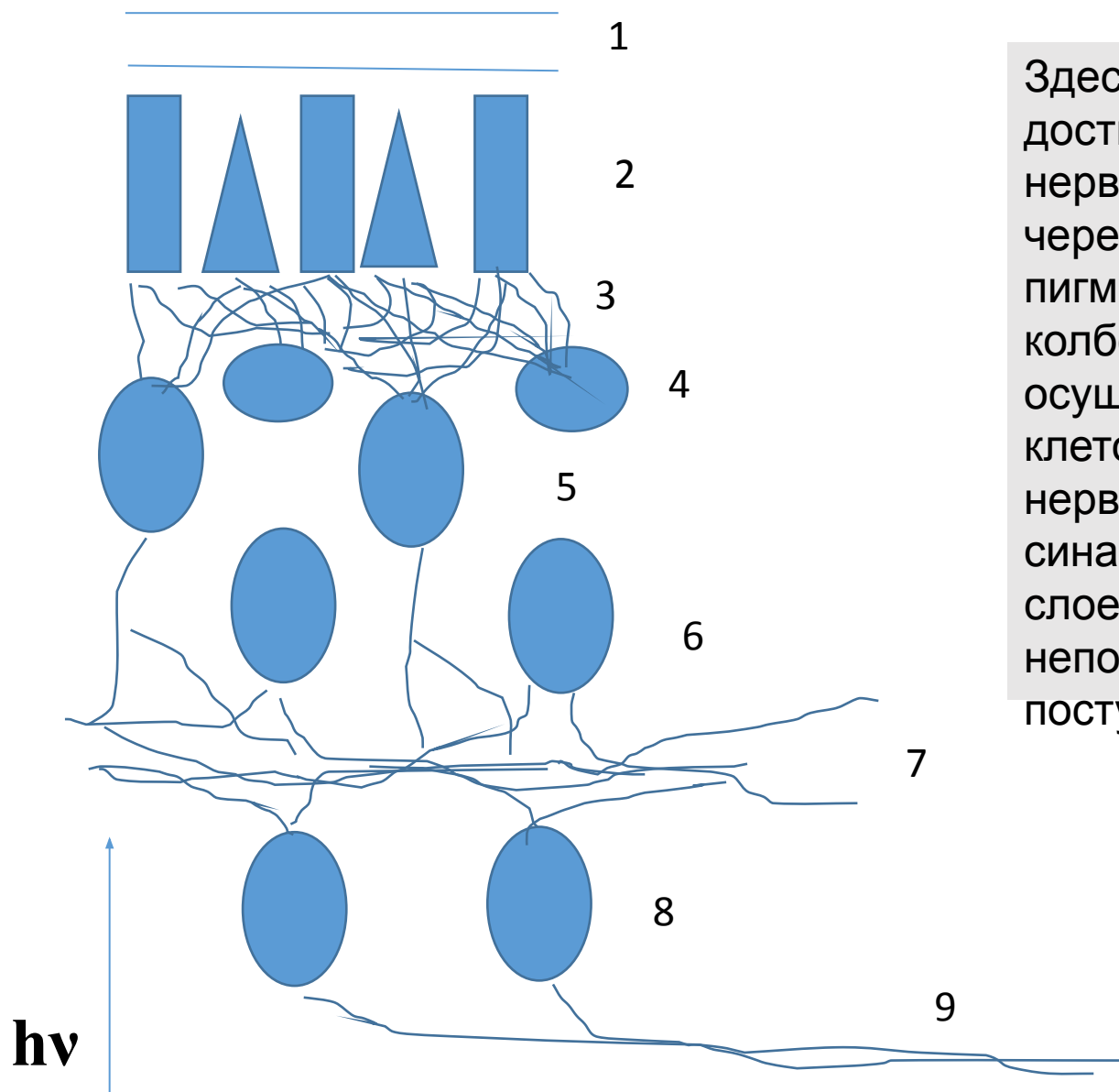


# Механизм зрительного восприятия



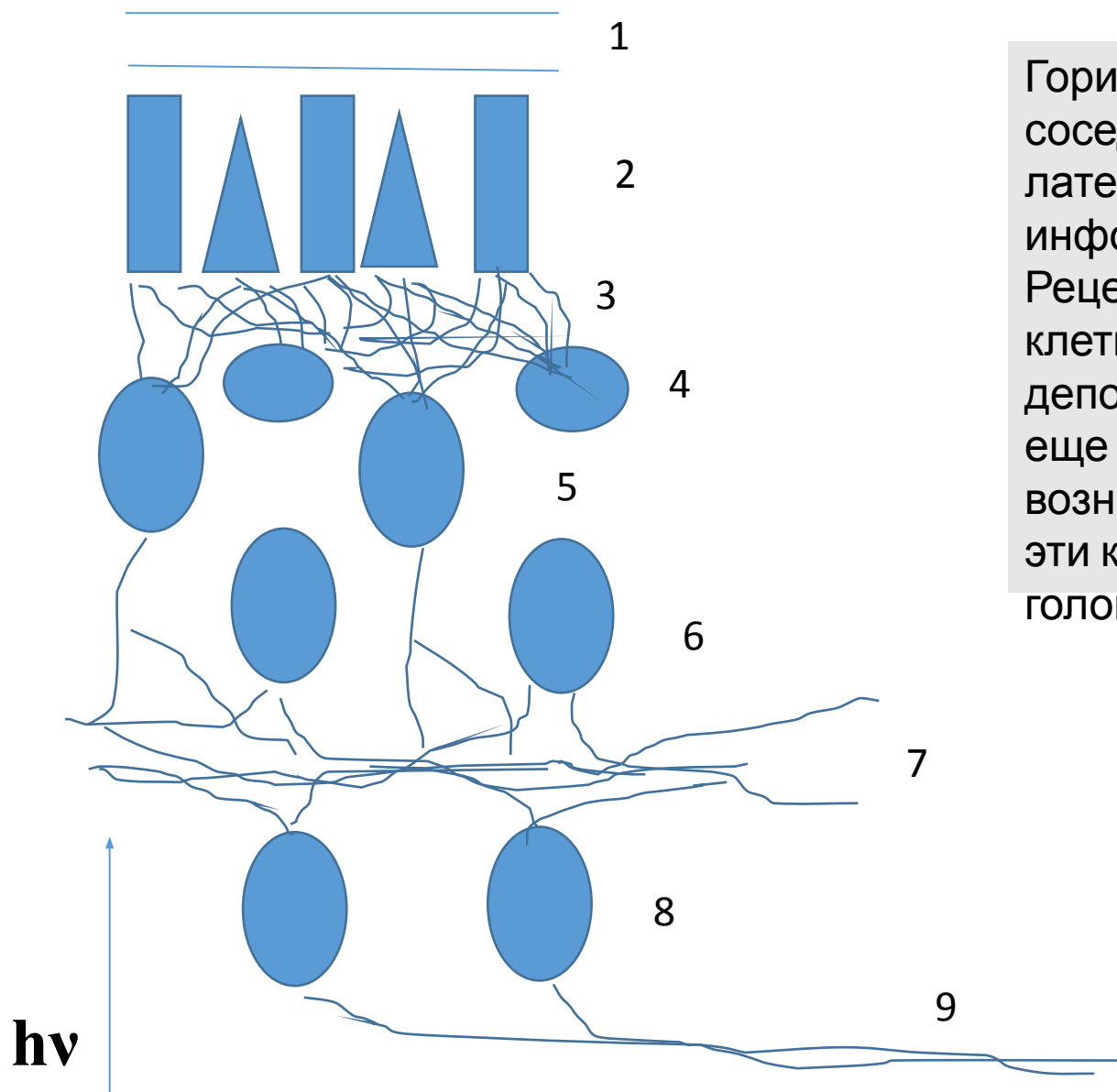
- 1-сетчатка;
- 2-зрительный нерв;
- 3-хрусталик;
- 4-цилиарная мышца;
- 5-радужная оболочка;
- 6-роговица;
- 7-зрачок

# Механизм зрительного восприятия



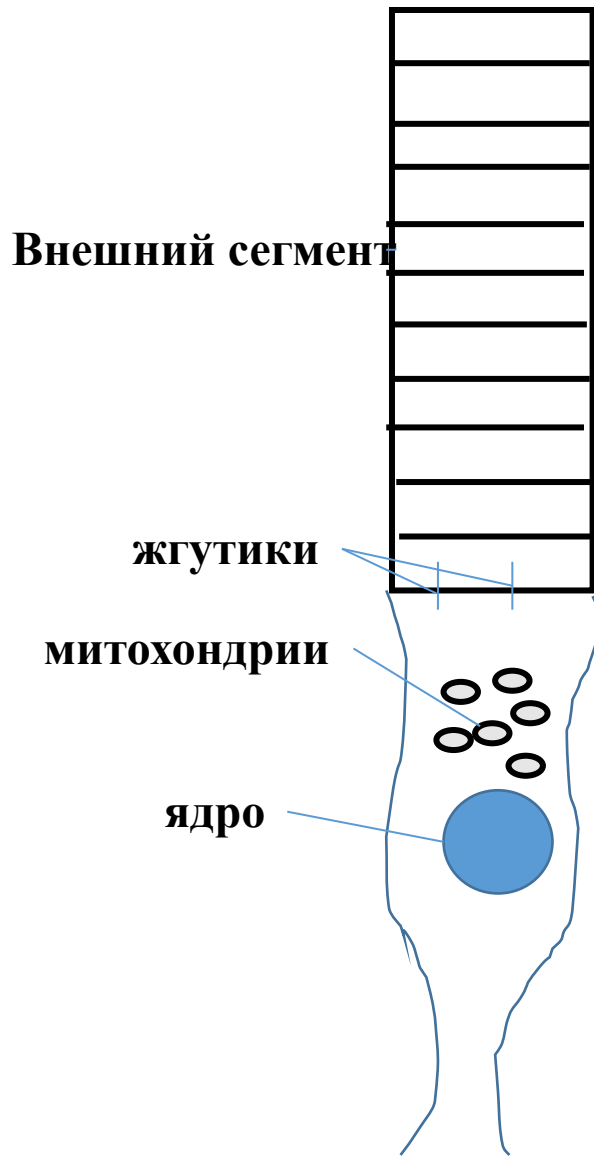
Здесь приведена структура сетчатки. Свет, прежде чем достичь рецепторных клеток (2) проходит через слой нервных клеток, которые предохраняют рецепторы от чрезмерных воздействий. Изображение возникает на пигментном эпителии (1) и передается на слой палочек и колбочек (2). Во внешнем синаптическом слое (3) осуществляется синаптическая связь фоторецепторных клеток (2) с горизонтальными нервными (4). Другие нервные клетки: биполярные (5) и амакриновые (6) синаптически связаны во внутреннем синаптическом слое (7) с ганглиозными клетками (8), являющимися непосредственными источниками импульсов, поступающих в аксоны зрительного нерва (9).

# Механизм зрительного восприятия



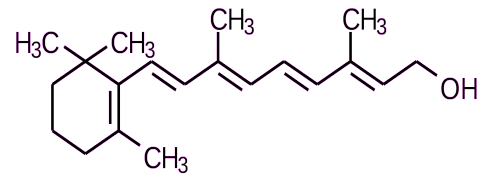
Горизонтальные (4) и амакриновые (6) клетки соединяют соседние фоторецепторы, обеспечивая передачу в латеральном направлении. Биполярные (5) передают информацию внутреннему синаптическому слою (7). Рецепторы (2), горизонтальные (4), а также биполярные клетки (5) при освещении испытывают плавную деполяризацию – их мембранный потенциал становится еще более отрицательным. Положительные импульсы возникают в апокриновых и ганглиозных клетках. Именно эти клетки служат источником импульсов, поступающих в головной мозг.

# Молекулярный механизм фоторецепции

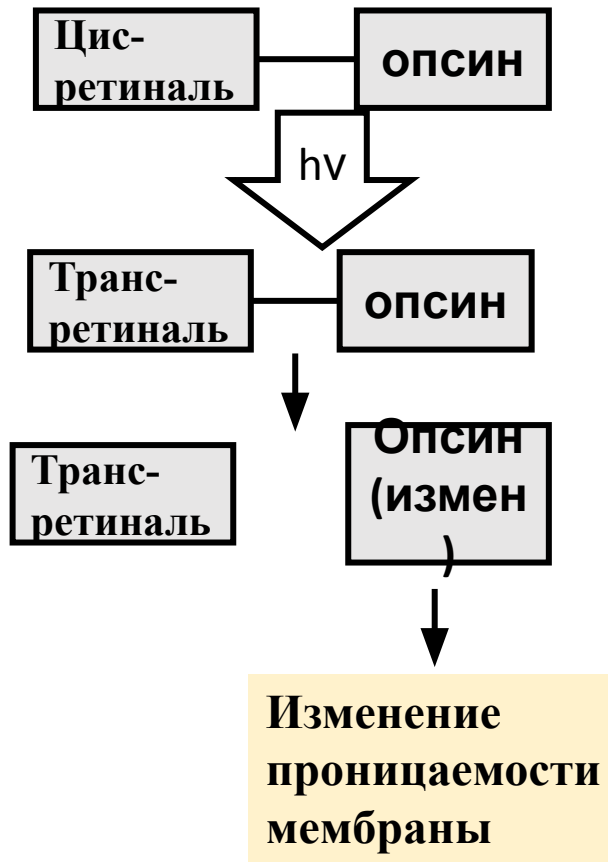


Юнг, а позднее Максвелл и Гельмгольц предложили существование трех видов светочувствительных рецепторов в сетчатке. Действительно, существуют три типа колбочек с максимумами поглощения в сине-фиолетовой, зеленой и желтой областях спектра. В дисках внешнего сегмента расположены фоторецепторные молекулы. Посредством жгутиков необходимые вещества поступают к дискам из основного тела клетки. Свет поглощается в дисках. Белки дисков непрерывно Обновляются.

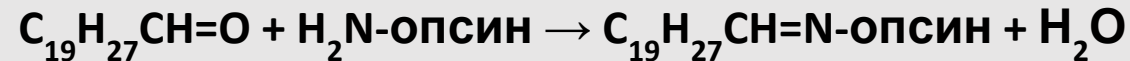
# Молекулярный механизм фоторецепции



Ретинол (витамин А)



В фоторецепторах ретинол существует в альдегидной форме-ретинол. Он связан с липопротеином опсином и формирует, таким образом, родопсин. В результате взаимодействия альдегидной группы ретинола и аминогруппы опсина образуется шиффово основание:

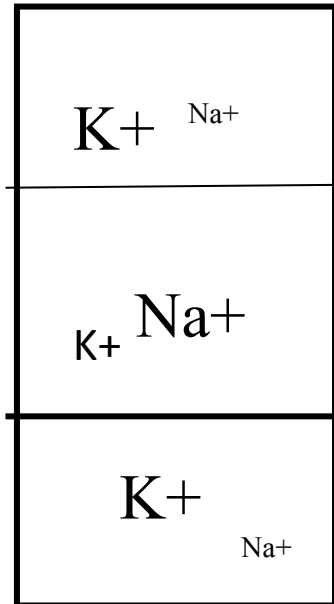


В темноте в комплексе с опсином ретинол находится в форме 11-цис. Эта форма менее стабильна, чем полная транс, но для комплекса с опсином наиболее энергетически выгодна цис-форма.

Под действием света происходит трансформация цис-формы в транс. Для такой трансформации необходима энергия ок. 12 кДж/М. Энергия кванта света с длиной волны 500 нм – 210 кДж/М. То есть она более чем достаточна для изомеризации.

Изомеризация приводит к изменению конформации опсина и, в конечном счете, к отрыву ретинола от опсина вследствие гидролиза шиффова основания. В свою очередь, изменение конформации опсина вызывает увеличение проницаемости мембраны и к возникновению нервного импульса.

# Молекулярный механизм фоторецепции



**Диски внешних сегментов представляют собой свободно плавающие органеллы. Их мембрана непроницаема для ионов. Родопсин является главной фракцией белка, составляющей до 80% его содержания. Изменение конформации родопсина приводит к увеличению проницаемости мембраны**