

# НОРМАЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

## ЛЕКЦИЯ 3

- Потенциал покоя
  - история вопроса
  - современные представления

[muk.physiolog@mail.ru](mailto:muk.physiolog@mail.ru)

Гайдуков Александр Евгеньевич

МУК МГУ 2013

# ВВЕДЕНИЕ

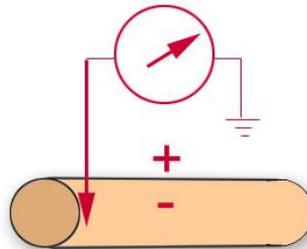
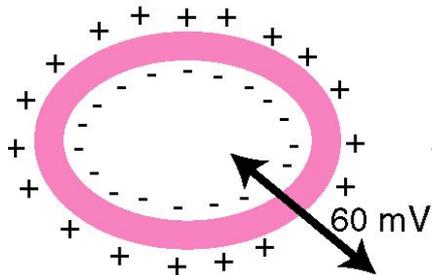
## Электрические явления -

электрические поля и электрические (ионные токи), текущие через мембрану клетки,

**свойственны всем живым клеткам (!!!)**

Поверхностная мембрана всех живых клеток обладает фундаментальным свойством - способна разделять и накапливать электрические заряды

(-) отрицательные - внутри, положительные (+) - снаружи.



Наличие постоянного перепада электрического поля между внутренней и наружной средой клетки носит название **потенциала покоя** (ППо) .

**ПП<sub>0</sub> - основополагающее свойство  
любой клетки, как возбудимой, так и невозбудимой**

## Отличия между электровозбудимыми и невозбудимыми клетками

- **Возбудимыми** называются клетки, у которых ионная проницаемость поверхностной мембраны изменяется при изменениях электрического потенциала на мембране
- **Возбудимыми** называются клетки, обладающие способностью в ответ на деполяризующее действие электрического тока генерировать особый тип потенциала, т.н. **потенциал действия (ПД)**

### Возбудимые клетки:

- Нейроны
- Мышечные клетки (*все типы*)
- Нейросекреторные клетки (*гипофиз, надпочечники*)
- Рецепторные клетки (*сетчатка, волосковые клетки, механочувствительные клетки*)

### Невозбудимые клетки:

- Клетки печени
- Клетки почек
- Глиальные клетки
- Клетки крови и др.

Потенциал действия (ПД) возникает на основе **предсуществующего** у клетки **ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ**

## 1-й этап научного исследования биопотенциалов

- **Луиджи Гальвани** (1791) «Трактат о силах электричества при мышечном движении»  
(*De Viribus Electricitatis in Motu Musculari Commentarius*)
- **Карло Маттеучи** (опыты в 1830-1865)

### Луиджи Гальвани (XVIII век)

В **1780** году Гальвани обнаружил, что если к туловищу лягушки приложить железную пластинку, а к лапке - медную, и затем пластинки соединить, то мышцы лапки будут сокращаться.

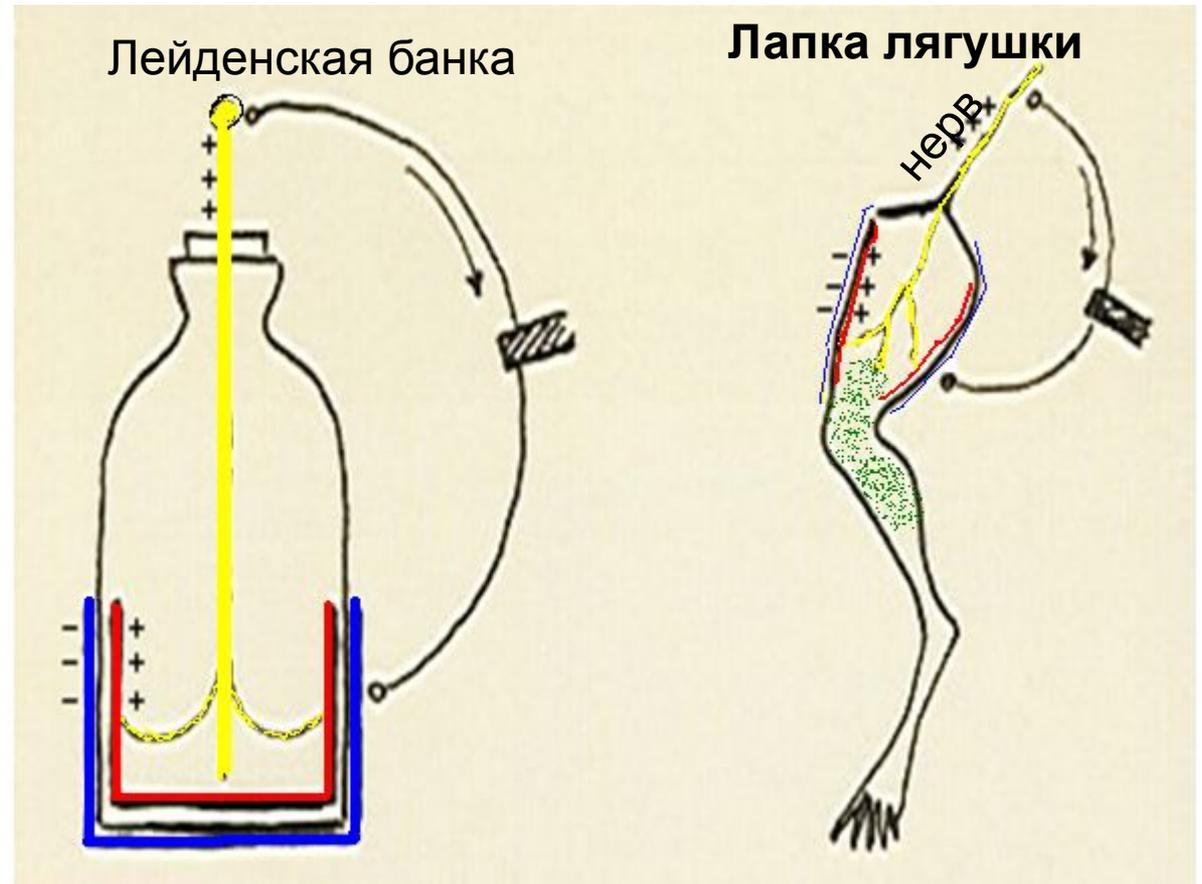
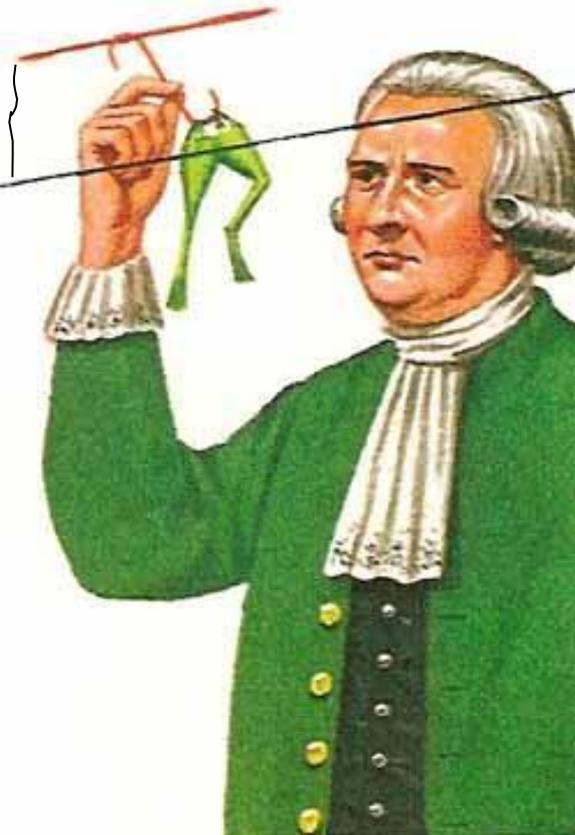
Гальвани трактовал этот факт как доказательство наличия "**животного электричества**", предположив, что мышца заряжена отрицательно по сравнению с нервом, и в цепи **нерв-металл-мышца-нерв** возникает **электрический ток**.



**Карло Маттеучи продолжил проверку гипотезу о существовании «животного электричества».**

# Лягушачьи лапки – это не только еда

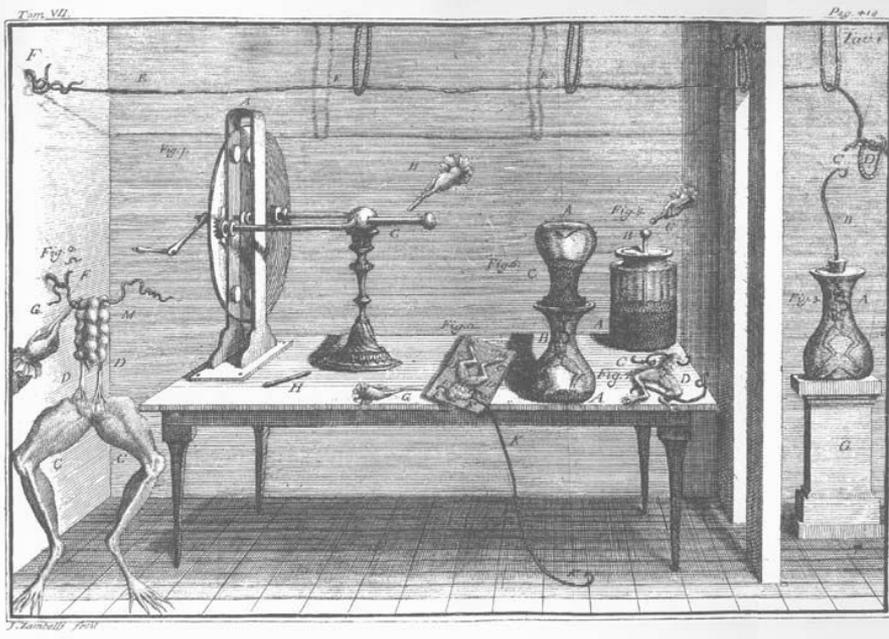
1791 год,  
Болонья



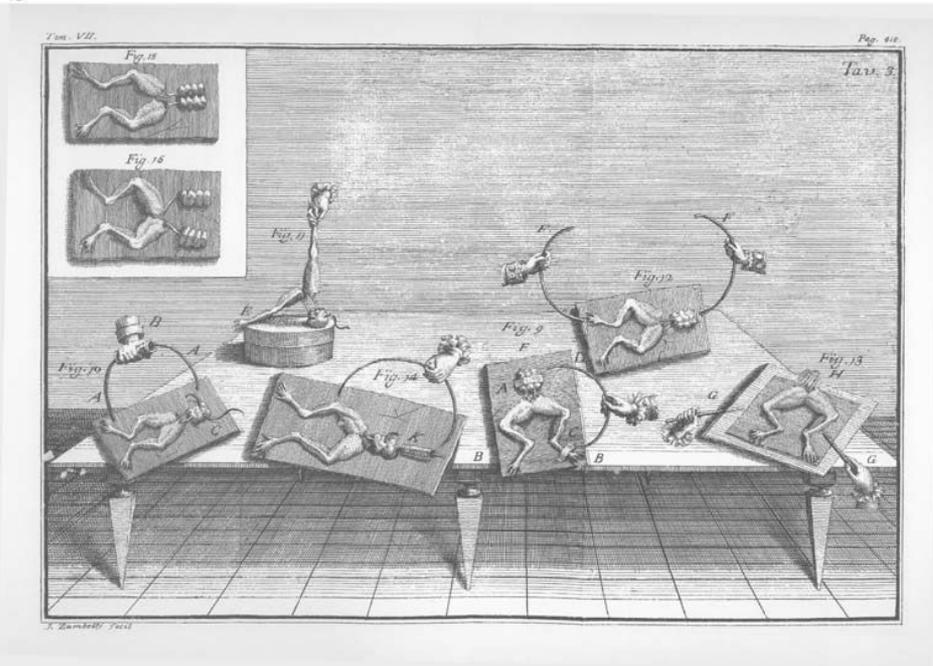
Л. Гальвани:

«Лапка лягушки – это живая Лейденская банка,  
**электрический конденсатор** животного  
электричества!!»

a



b



«De Viribus Electricitatis in Motu Musculari Commentarius» 1791

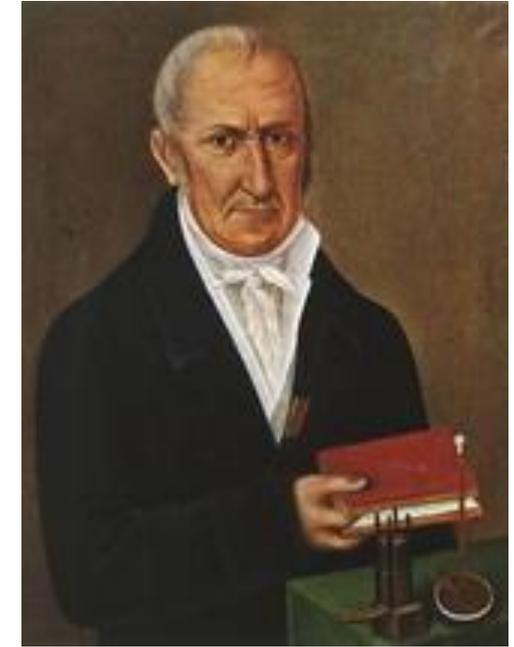
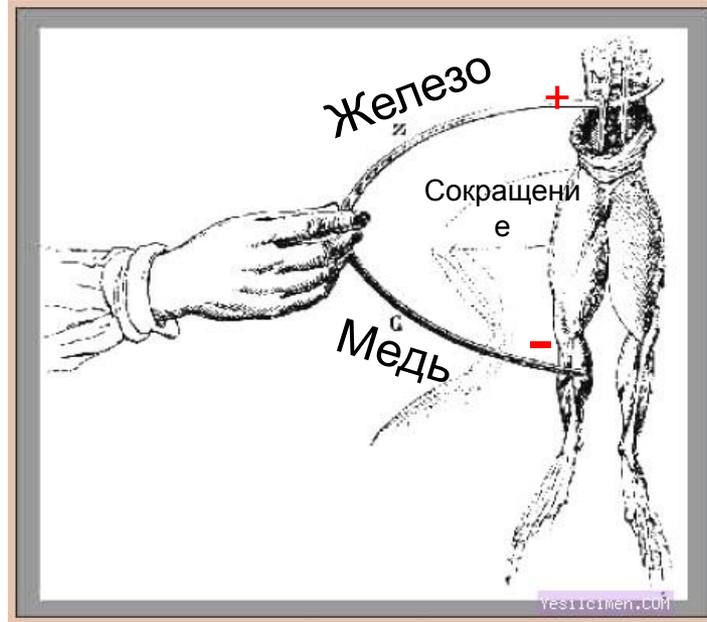


Луиджи Гальвани

«Мышца – накопитель электричества, а нерва его проводник!!»

Спор между Л.Гальвани и А.Вольта

Конец 18-го века



Алессандро Вольта

В лапке нет никакого электричества!  
Электричество – в самом пинцете!

Почему же сокращается лапка ?????

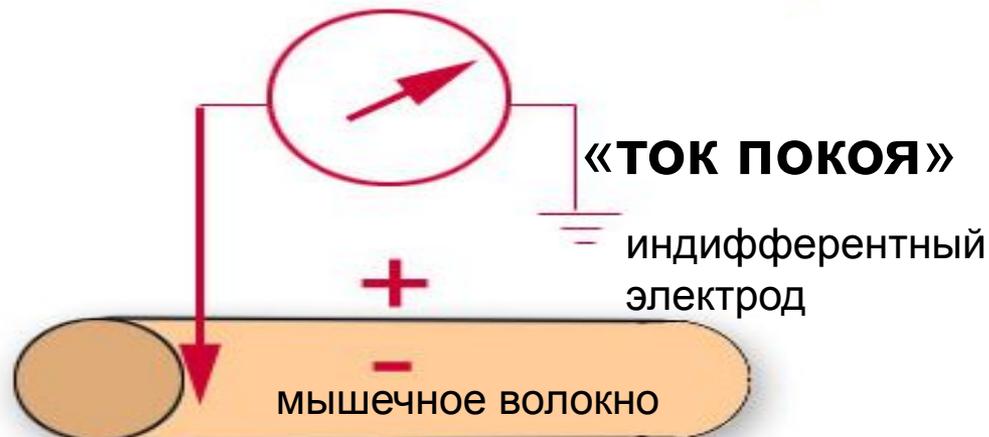
Из-за разряда электричества которое накоплено в мышце!

Лапка раздражается **внешним электричеством** существующим в паре разнородных металлов !!

## Опыты по измерению «тока покоя»

**Эмиль Дюбуа-Реймон**

**Регистрация электрического тока струнным гальванометром (1860-1880)**



Между внутренней и наружной поверхностью клеток существует **перепад напряжения**. При введении одного электрода внутрь клетки наблюдается ток - ток покоя!

**Да, клетка (ее мембрана) - электрический конденсатор, но в чем причина ?  
И что происходит при возбуждении клетки ?**

**Вопрос:**

- Как объяснить наличие пространственного разделения электрических зарядов - сосредоточения положительных зарядов снаружи клеток, а отрицательных – внутри, т.е. **наличие электрического потенциала** между наружной и внутренней поверхностью клеток?

# Диффузионный потенциал

Диффузия заряженных частиц – противо-ионов происходит с разной скоростью, в соответствии с их подвижностью в растворе электролита

## Вальтер Нернст

ввел понятие

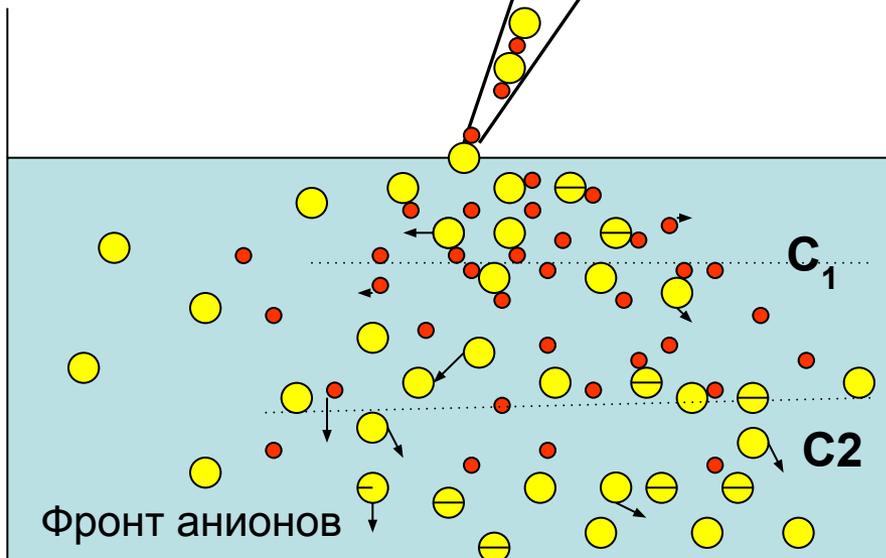
«диффузионный потенциал».

Возникает в растворе электролита при диффузии анионов и катионов соли



Соль  
A- K+

- ● Анионы
- + ● Катионы



$$V_{\text{диф}} = \frac{RT}{F} \frac{u_1 - u_2}{u_1 + u_2} \ln \frac{[C_i^+]_1}{[C_i^+]_2}$$

$U$  - подвижность иона

см/сек : В/см = см<sup>2</sup> / В·сек

## Вильгельм ОСТВАЛЬД

Вводит понятие **«электролитическая ячейка»** для сосуда, разделенного **полупроницаемой мембраной**

В соседние отсеки (ячейки) 1 и 2 налиты растворы электролита  $K^+A^-$  разной концентрации –  $C_1$  и  $C_2$

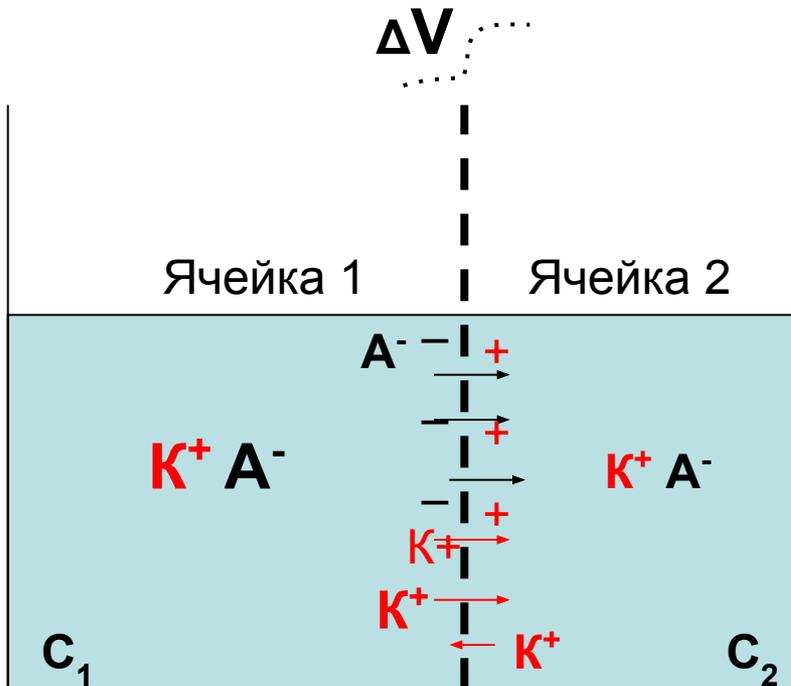
Ячейки отделены друг от друга **ПОЛУПРОНИЦАЕМОЙ МЕМБРАНОЙ**



$P$  – проницаемость иона через мембрану, **см/сек**

$$P_K > 0$$

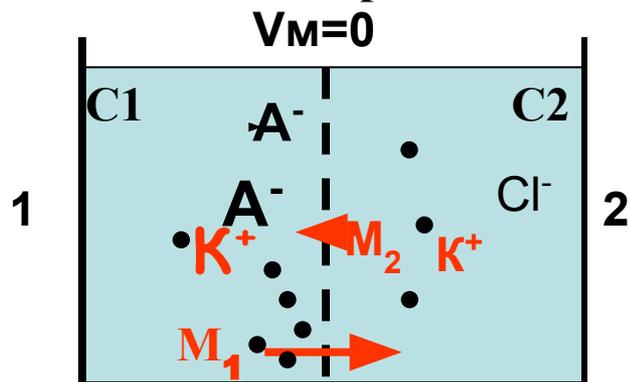
$$P_A = 0$$



Концентрации катиона  $K^+$  между ячейками 1 и 2 **не выравняются!** т.к. на мембране возникает **трансмембранный потенциал!**,

- разновидность диффузионного потенциала, вычисляемого по формуле Нернста, когда «подвижность» одного из противоионов равна нулю!

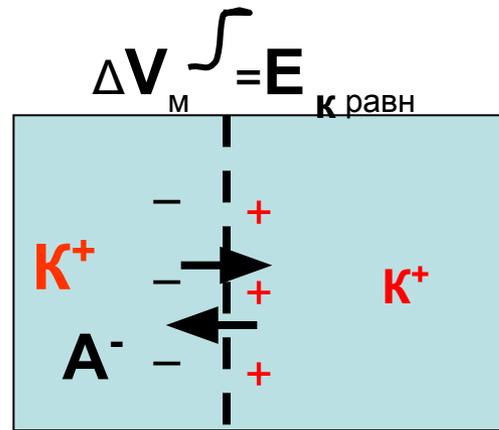
# Электролитическая ячейка



$M_1 = P \cdot C_1$  ;  $M_2 = P \cdot C_2$   
 поток слева направо      поток справа налево

В ПЕРВЫЙ МОМЕНТ

$M1 \neq M2$



$M = M$  ;  $P \cdot C_1 \cdot e^{-V/KT} = P \cdot C_2$

Доля ионов, способных преодолеть энергетический барьер из-за потенциала на мембране

ПРИ УСТАНОВИВШЕМСЯ ПОТЕНЦИАЛЕ

$V_m$

ПОТОКИ ИОНОВ КАЛИЯ ВЫРАВНЕННЫ

$M1 = M2$

Величина потенциала рассчитывается по формуле Нернста

$$V_m = KT \ln \frac{C_1}{C_2} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_1}{[K^+]_2}$$

... прологарифмировав, получаем

## Конец XIX – Начало XX века

### опыты по определению

- содержания калия в клетке,
- движению воды из или внутрь клетки

### Концентрация ионов внутри клетки и в наружной среде

Объект	ИОН	Концентрация, мМ	
		внутри клетки	снаружи клетки
Гигантский аксон кальмара	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>369</b>	<b>13</b>
	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>44</b>	<b>460</b>
	<b>Cl<sup>-</sup></b>	<b>36</b>	<b>540</b>
Скелетная мышца лягушки	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>140</b>	<b>2,5</b>
	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>15</b>	<b>110</b>
	<b>Cl<sup>-</sup></b>	<b>1,2</b>	<b>77</b>
Мотонейрон кошки	<b>K<sup>+</sup></b>	<b>150</b>	<b>5,5</b>
	<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>15</b>	<b>150</b>
	<b>Cl<sup>-</sup></b>	<b>9</b>	<b>125</b>



Юлиус Бернштейн – 1902-1912 гг., Берлин

- на основании данных физ.химии (работы Нернста, Оствальда)

- используя данные о высокой концентрации  $K^+$  в клетке

- используя данные о свободном движении воды через мембрану и возможном существовании электролитов в клетке

формулирует «**Мембранную теорию**» происхождения «потенциала покоя»

1. Система – “Клетка – Наружная среда” может быть уподоблена электролитической ячейке Оствальда, разделенной полупроницаемой мембраной

2. В клетке высока концентрация ионов калия  $K^+$  (140-150 ммоль) и  $A^-$  - органических анионов. В наружной среде концентрация  $K^+$  мала – 4-5 ммоль .

3. Ионы калия проникают через мембрану, а их противоионы - органические анионы ( $A^-$ ) – не проникают.

4. В таком случае на мембране устанавливается потенциал, выравнивающий потоки ионов калия.

$ПП_0 = E_{K_{равн}}$  - равновесный потенциал для потоков ионов калия.

# Юлиус Бернштейн



Людвиг Германн

Альтерационная теория

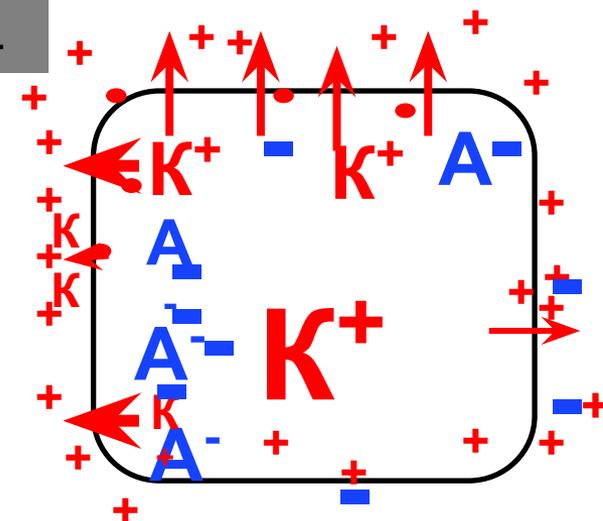
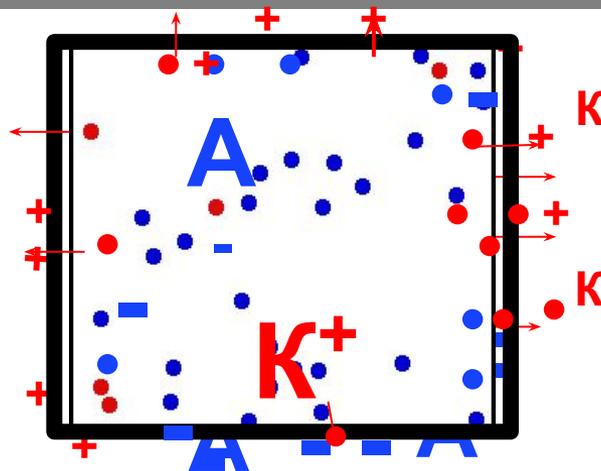
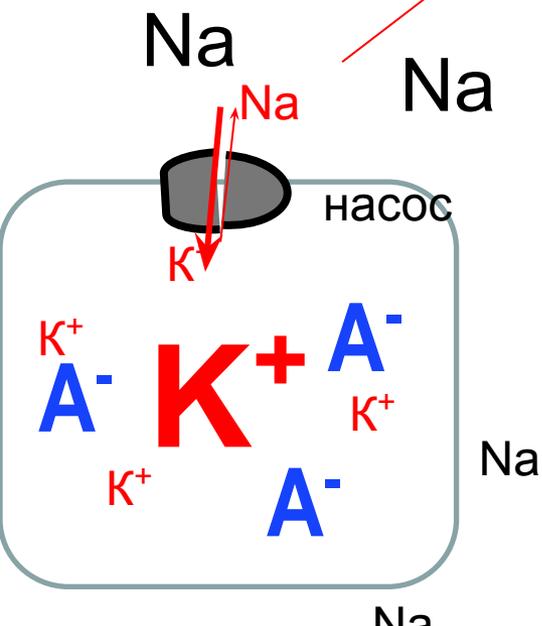


Иоганнес Мюллер

Все это -  
жизненная сила!

## 1901-1911 Мембранная теория

У КЛЕТКИ - избирательная  
проницаемость к КАЛИЮ и калия  
очень много в клетке, поэтому...





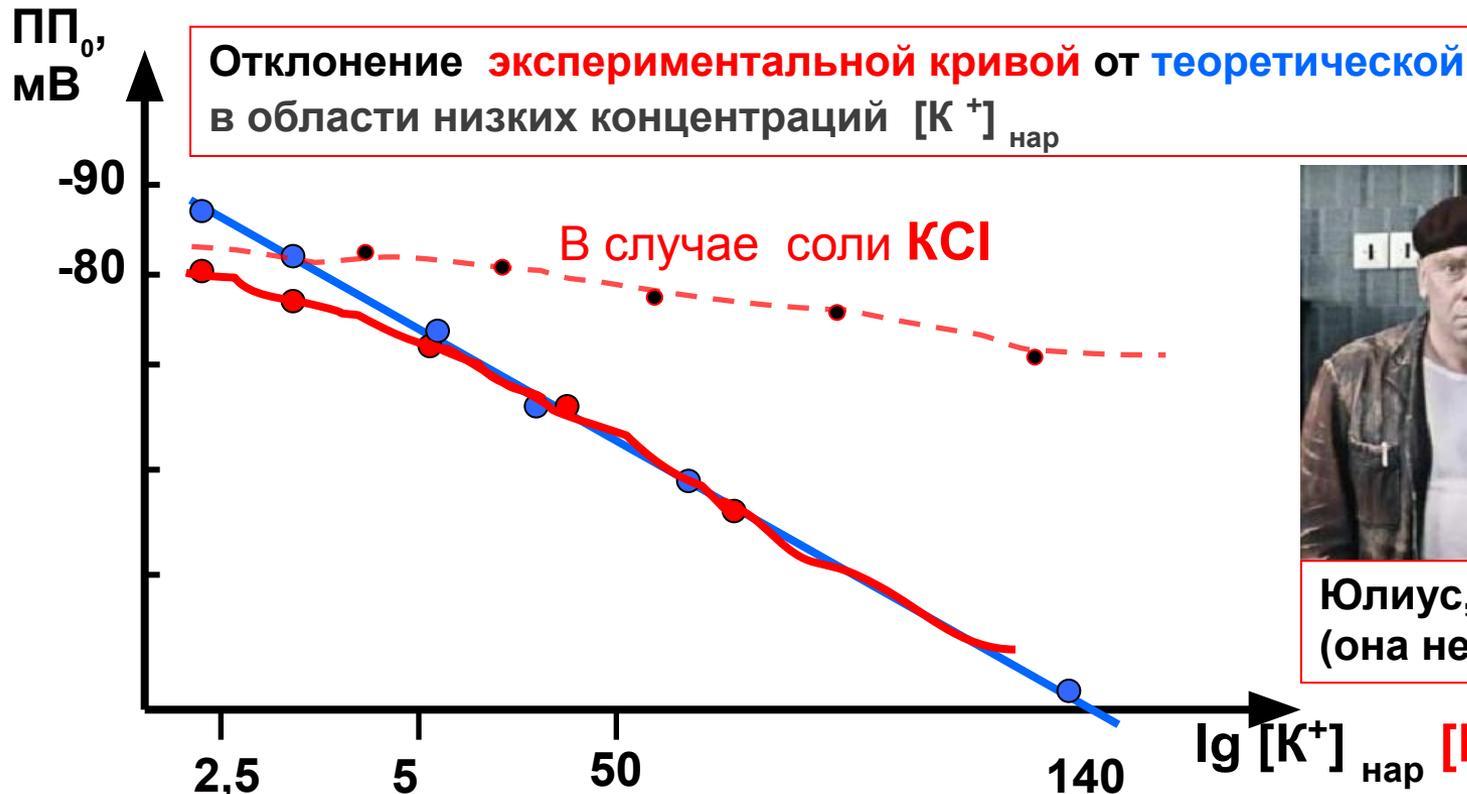


# Экспериментальные подтверждения мембранной теории Ю. Бернштейна

1. Измерения МП мышечных волокон при разной температуре.  
 Определение темпер. коэффициента  $Q_{10} \sim 1,03-1,3$   
*Косвенное подтверждение диффузионной, а не метаболической природы ПП*
2. Измерения зависимости МП от  $[K]_{нар}$  – хорошо соответствует

При 20°C

$$V_M = -581g \frac{[K^+]_{вн}}{[K^+]_{нар}}$$



Юлиус, все пропало!!!  
(она не работает???)

Что будет с  $ПП_0$  клетки, если мембрана клетки проницаема и к калию, и к хлору?

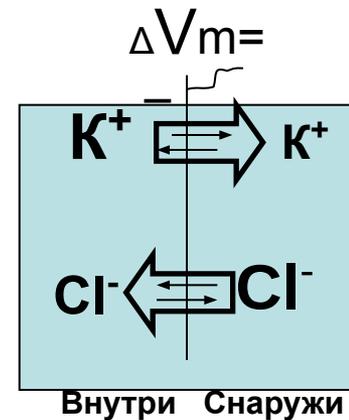
# Следствия из наличия у мембраны проницаемости к двум ионам:

## к калию, и к хлору

1. Сохраняется основная идея Бернштейна о том, что  $ПП_0$  - РАВНОВЕСНЫЙ потенциал для проницаемых ионов.

$$ПП_0 = E_{\text{равн K}} = E_{\text{равн Cl}}$$

2. В отличие от потока калия наружу, движение хлора внутрь клетки сопровождается изменениями концентраций ионов в клетке.



40-е годы XX века

## Модель мембраны, проницаемой к трем ионам – калию, хлору и НАТРИЮ

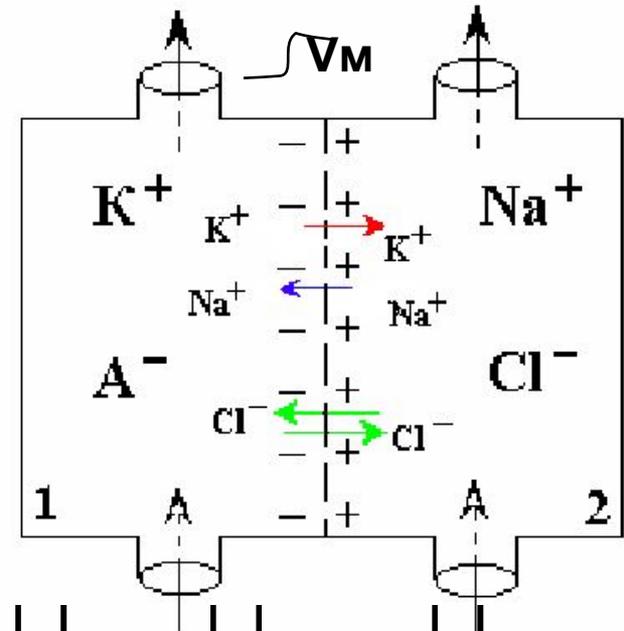
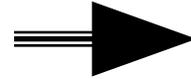
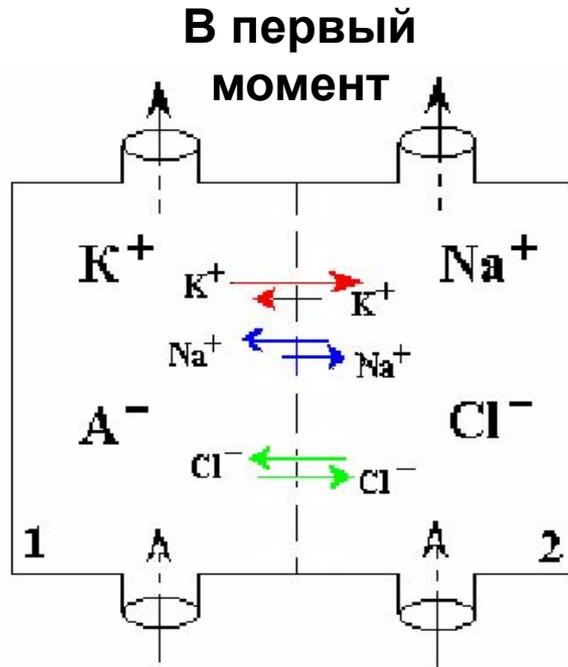
ДАНО:  $\text{ПП}_0 = -80\text{ мВ}$  ;  $E_{\text{равн Na}} = +30\text{ мВ}$ , а мембрана клетки пропускает ионы натрия !?

Если мембрана клетки проницаема и к натрию, то потенциал покоя не может быть равновесным для трансмембранных потоков ионов натрия и других проникающих ионов – калия и хлора

$$\text{ПП}_0 \neq E_{\text{равн K}} \neq E_{\text{равн Cl}} \neq E_{\text{равн Na}}$$

**Вопрос:** как же формируется и удерживается стабильный  $\text{ПП}_0$  порядка  $-80\text{ мВ}$ ?

# Модель электролитической ячейки, проницаемой к трем ионам



$$I_K + I_{Na} + I_{Cl} = 0$$

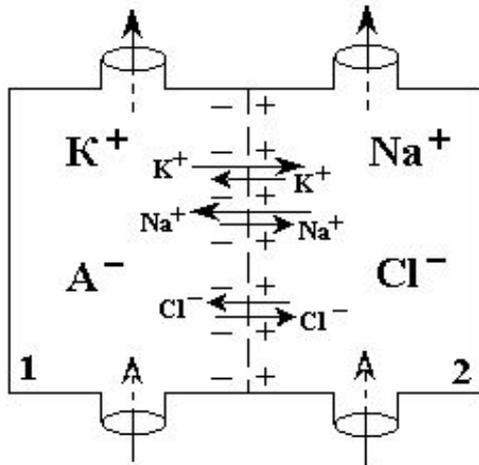
В результате формируется -  
стационарный потенциал покоя  
при котором  
**разностные токи**  
калия, натрия и хлора в сумме  
равны нулю.

Внутри клетки

Через мембрану текут **три**  
противоположно направленных  
ионных тока -  
калия, натрия, хлора.

Каждый из токов участвует в  
создании потенциала на  
мембране

# Модель мембраны с тремя проникающими ионами



**Уравнение Голдмана – Ходжкина – Катца**  
 «В момент установления  $V_M$  ионные потоки  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Na^+$  остаются не выравненными».  
**Но! Их алгебраическая сумма равна нулю!!!**

$$I_K + I_{Na} + I_{Cl} = I_K + I_{Na} + I_{Cl}$$

$$\therefore \sum M_{K,Na,Cl} = 0$$

$$I_K + I_{Na} + I_{Cl} = 0$$

$$P_{K^+} > 0; P_{Cl^-} > 0; P_{Na^+} > 0;$$

Но!  $P_A = 0$  и камеры – проточные.

Уравнение разностного тока для токов натрия, калия и хлора

$$I_i = \frac{F^2}{RT} \cdot P \cdot V_M \cdot \frac{[i]_i - [i]_o \cdot e^{-\frac{VF}{RT}}}{1 - e^{-\frac{VF}{RT}}}$$

$$P_K [K^+]_1 \cdot e^{-\frac{V}{RT}} + P_{Na} [Na^+]_1 \cdot e^{-\frac{V}{RT}} + P_{Cl} [Cl^-]_2 \cdot e^{-\frac{V}{RT}} = P_K [K^+]_2 + P_{Na} [Na^+]_2 + P_{Cl} [Cl^-]_1$$

$$e^{-\frac{V}{RT}} (P_K [K^+]_1 + P_{Na} [Na^+]_1 + P_{Cl} [Cl^-]_2) = P_K [K^+]_2 + P_{Na} [Na^+]_2 + P_{Cl} [Cl^-]_1$$

Решаем для  $V_M$  и прологарифмирова в, получаем

$$V_M = \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{P_K [K^+]_1 + P_{Na} [Na^+]_1 + P_{Cl} [Cl^-]_2}{P_K [K^+]_2 + P_{Na} [Na^+]_2 + P_{Cl} [Cl^-]_1}$$

# МОДЕЛЬ МЕМБРАНЫ С ТРЕМЯ ПРОНИКАЮЩИМИ ИОНАМИ

## Уравнение Голдмана-Ходжкина-Катца

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K \cdot [K^+]_{вн} + P_{Na} \cdot [Na^+]_{вн} + P_{Cl} \cdot [Cl^-]_{нар}}{P_K \cdot [K^+]_{нар} + P_{Na} \cdot [Na^+]_{нар} + P_{Cl} \cdot [Cl^-]_{вн}}$$

**ВОПРОС:**

Как соотносятся величины проницаемостей

$P_K$     $P_{Na}$     $P_{Cl}$

между собой при потенциале покоя?

$ПП_0 = -70 - -100$  мВ

# Модель мембраны с тремя проникающими ионами

Уравнение Гольдмана- Ходжкина – Катца

$$V_M = \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{P_K [K^+]_1 + P_{Na} [Na^+]_1 + P_{Cl} [Cl^-]_2}{P_K [K^+]_2 + P_{Na} [Na^+]_2 + P_{Cl} [Cl^-]_1}$$

**Проницаемость  $P$**  (см/сек) и **Проводимость  $g$**  (сименс) иона через мембрану

$$V_M = \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{g_K [K^+]_в + g_{Na} [Na^+]_в + g_{Cl} [Cl^-]_н}{g_K [K^+]_н + g_{Na} [Na^+]_н + g_{Cl} [Cl^-]_в}$$

Пассивная  
проницаемость иона  
–  $P_i$  (см/сек)

обусловлена  
физическими  
свойствами канала  
утечки,  
НЕ зависит от  $V_M$

Проводимость  $g$  – показатель ионного тока,  
текущего через мембрану при  $V_m \neq E_{равн}$

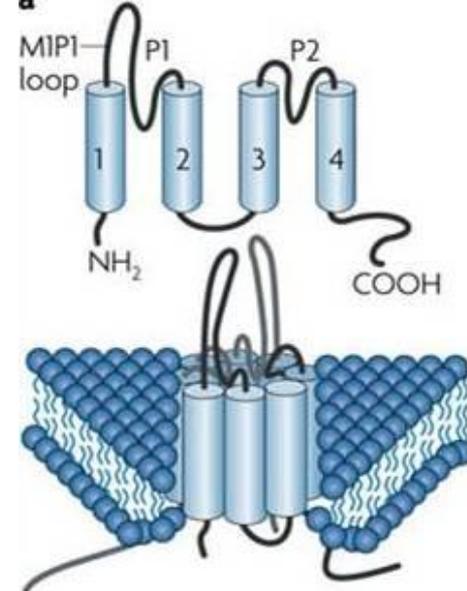
$$g_i = \frac{I_i}{V_m - E_{равн}}$$

Зависит от  $P$  и  
концентрации ионов

# Каналы пассивной ионной проводимости

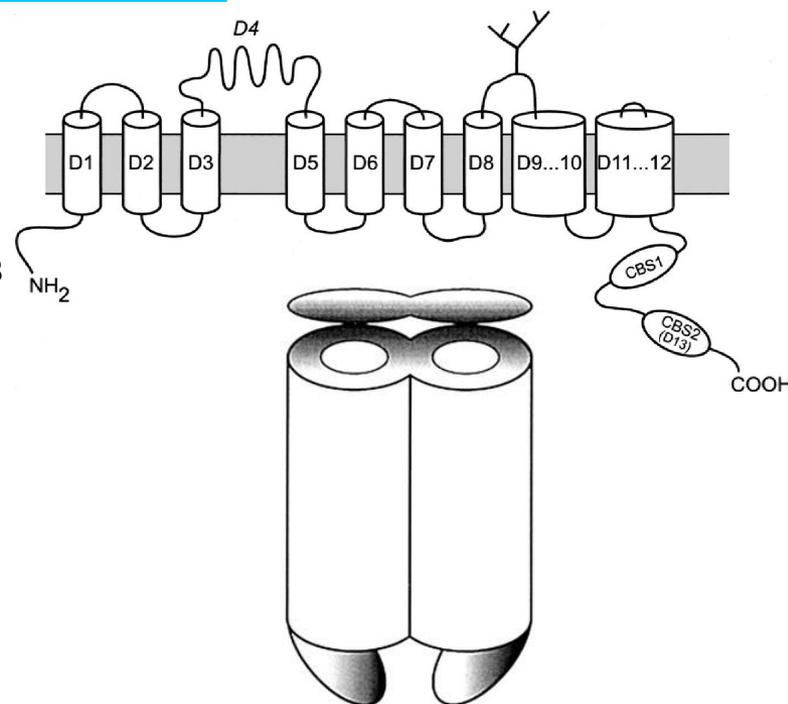
В нейронах и других клетках обнаружены и выделены белковые молекулы, функционирующие как каналы пассивной проницаемости для:

- Ионов калия (~15 подтипов) - димеры
- Ионов хлора
- Для ионов  $\text{Na}^+$  специальных каналов утечки не найдено!



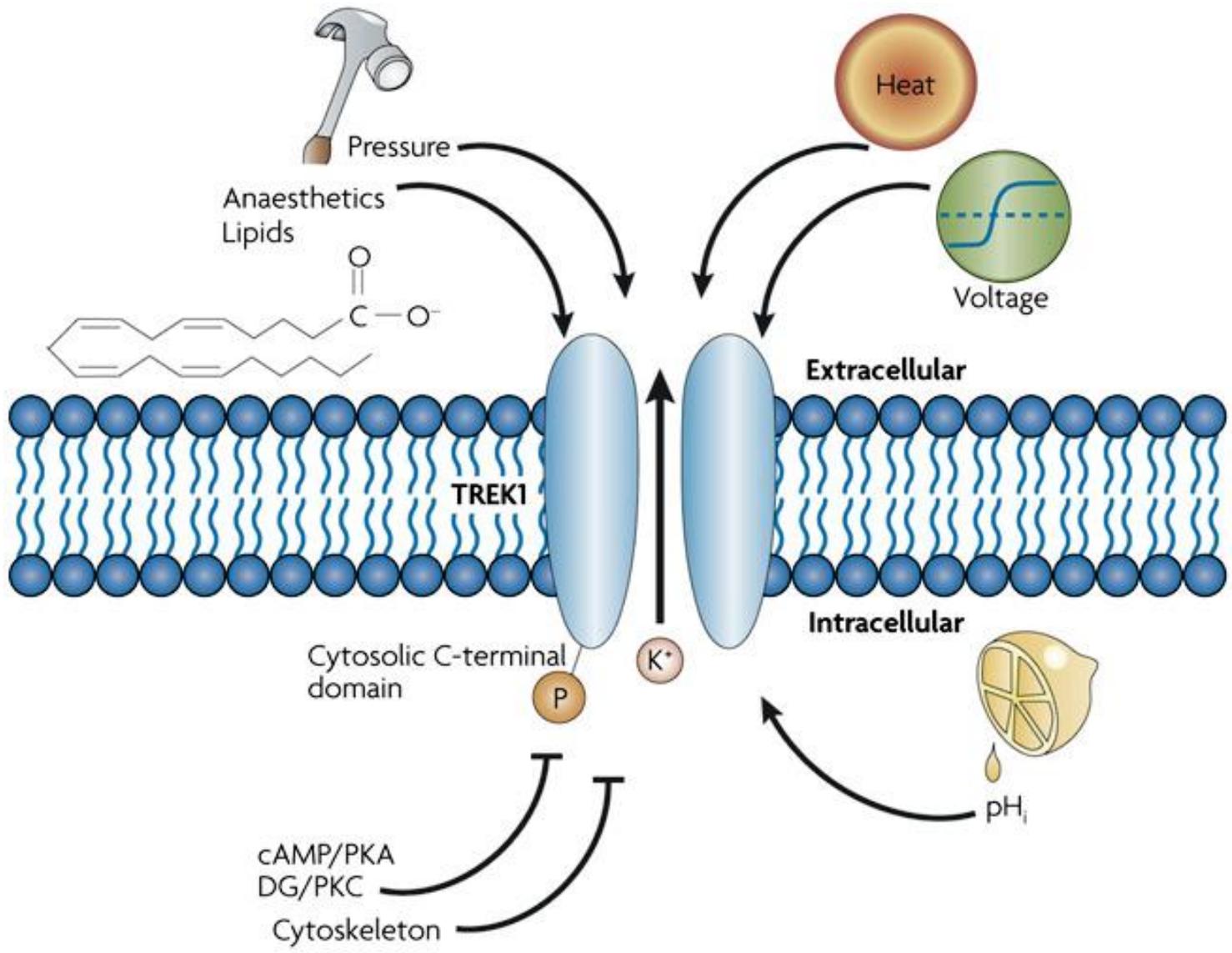
## Свойства каналов утечки:

1. Канал обладает избирательной проницаемостью к определенному виду ионов (только калия или только хлора)
2. Канал находится в открытом состоянии ПОСТОЯННО, не зависимо от потенциала на мембране! Нет ворот!!!
3. Каналы пассивной проницаемости обуславливают движение ионных токов через мембрану и сдвигов ПП в отсутствие ПД (электротон и т.п. подпороговые сдвиги МП)

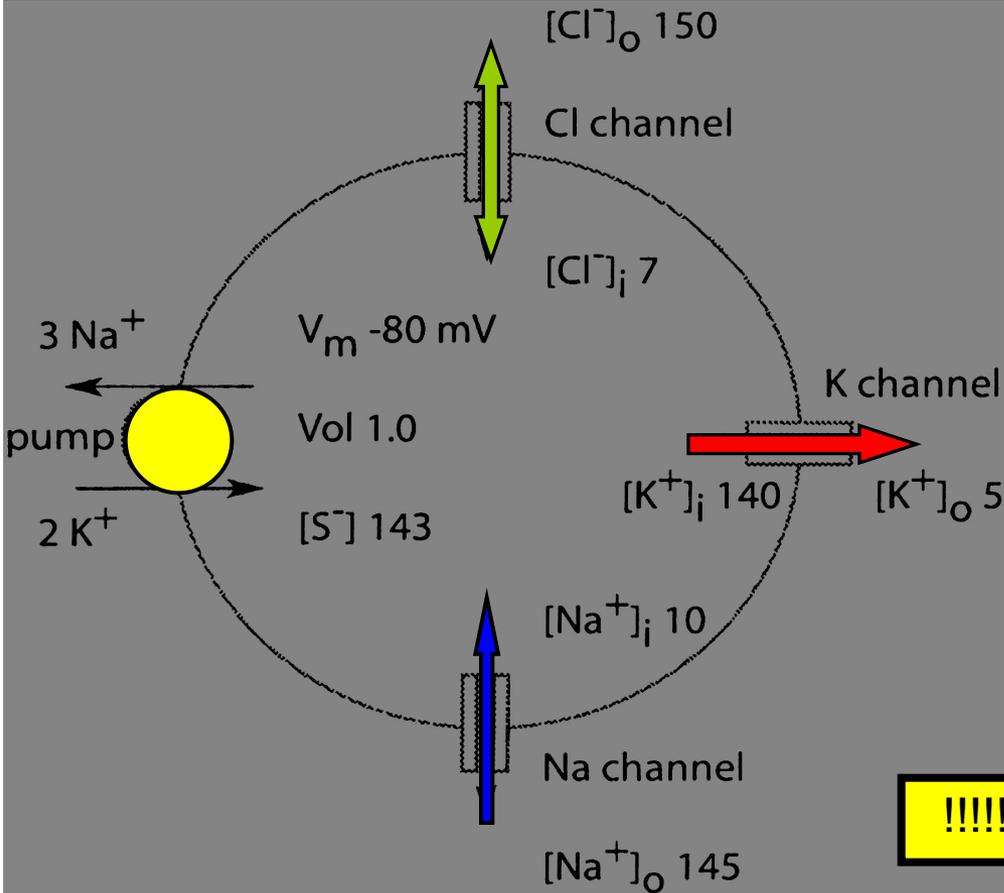


# Каналы пассивной ионной проводимости

способны реагировать на различные воздействия



1. В состоянии ПОКОЯ мембрана клетки **проницаема** к трем видам ионов – к **калию**, **натрию**, **хлору**.
2. Потенциал покоя ( $PP_0$ ) клетки – стабильная величина.  $PP_0$  **не является равновесным потенциалом** ни для суммарных потоков ионов калия, ни для суммарных потоков ионов натрия.
3. В состоянии покоя через мембрану клетки текут пассивные ионные токи - ток калия  $I_{K^+}$  - **наружу**, ток натрия  $I_{Na^+}$  – **внутри** клетки.



4. В клетке должен существовать механизм для поддержания **постоянства** концентрационных градиентов **Na** и **K** и **постоянства**  $PP_0$ .

$PP_0 = -80 \text{ мВ}$

$E_{K \text{ равн}} = 58 \lg C_{out} / C_{in} = -90 \text{ мВ}$

$E_{Na \text{ равн}} = 58 \lg C_{out} / C_{in} = +30 \text{ мВ}$

**!!!! Выкачивание  $Na^+$  и закачивание  $K^+$**

# Mg<sup>2+</sup>-зависимая, Na<sup>+</sup>-, K<sup>+</sup>-активируемая аденозинтрифосфатаза (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФаза)

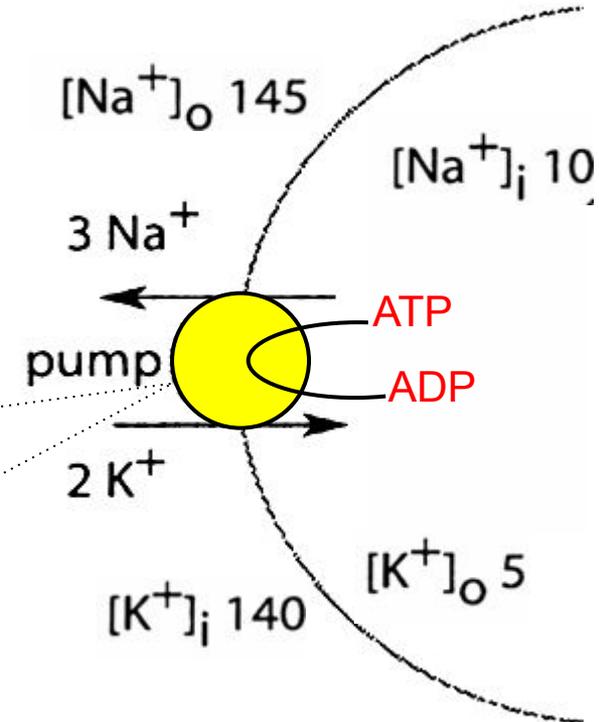
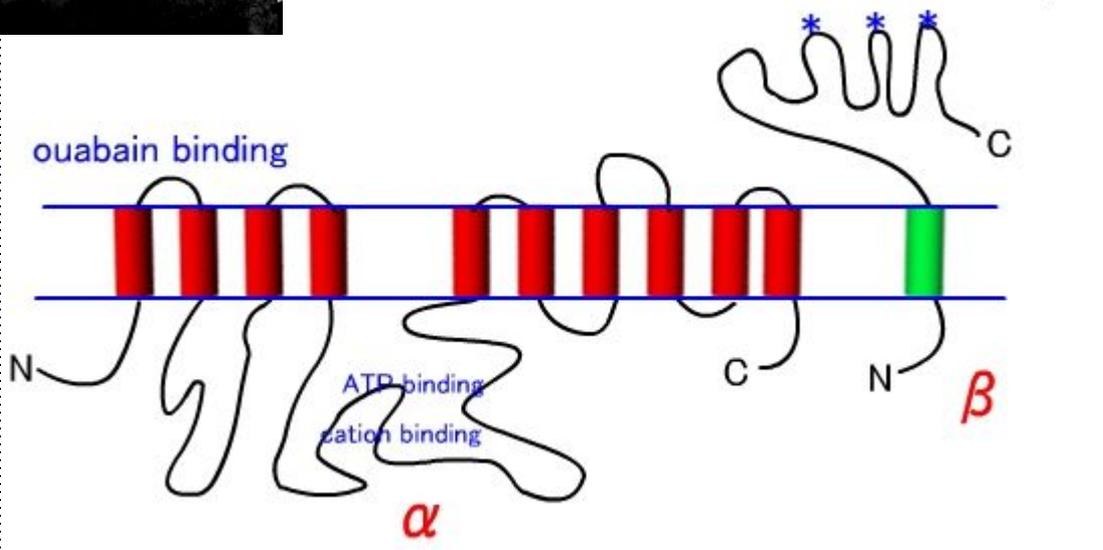
обеспечивает перенос ионов Na и K против электрохимического градиента



**Jens Christian Skou**

(1957)

*The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves // Biochim. et. Biophys. Acta, 23, 394-401*



- **α** – каталитическая (10 ТМ-доменов **M1 - M10**), ~ 100 кДа (4 изоформы)

- **β** – регуляторная, ~ 45 кДа (3 изоформы)

+ γ-субъединица - регуляторная, ~ 10 кДа, относится к группе FXYD-белков

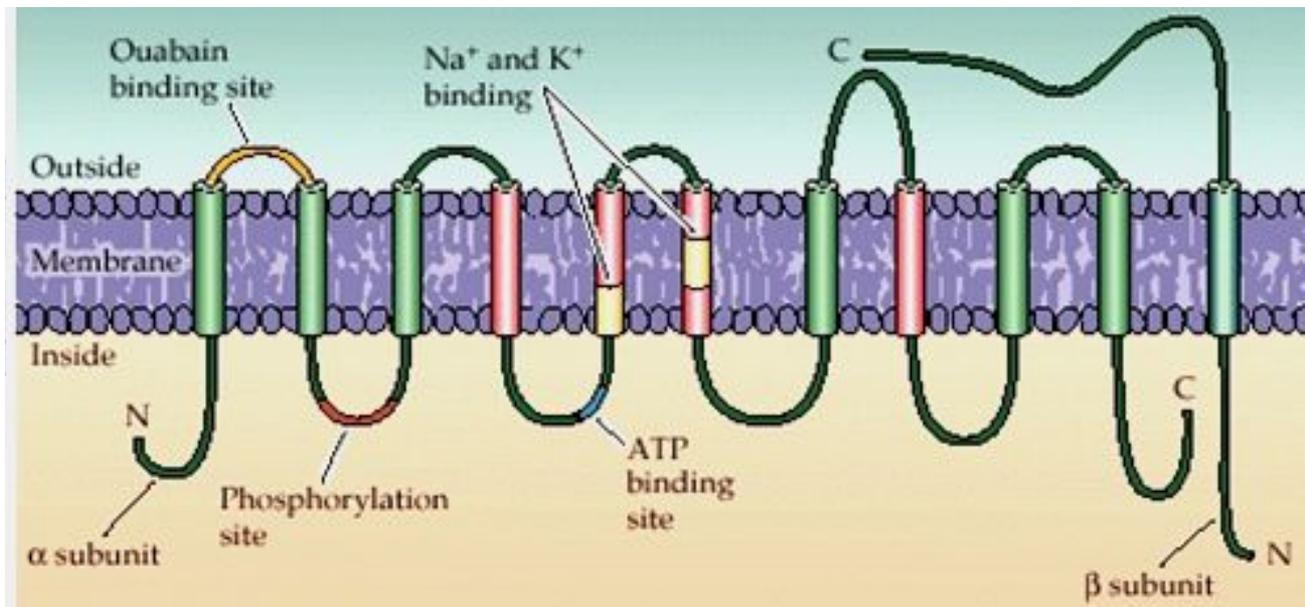
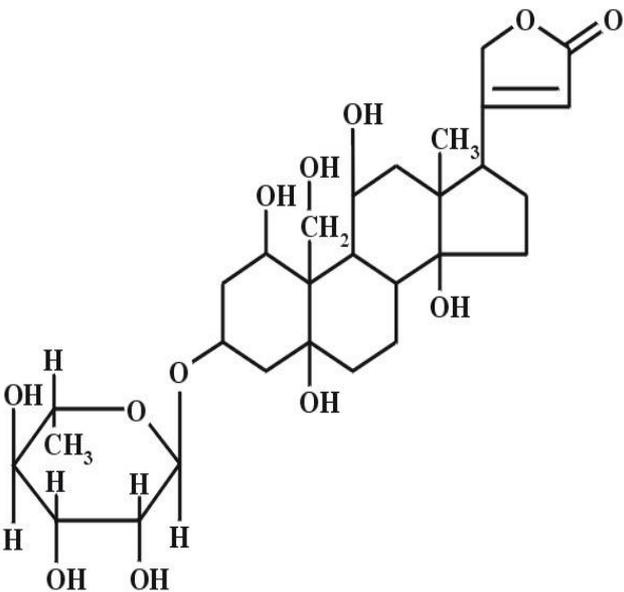
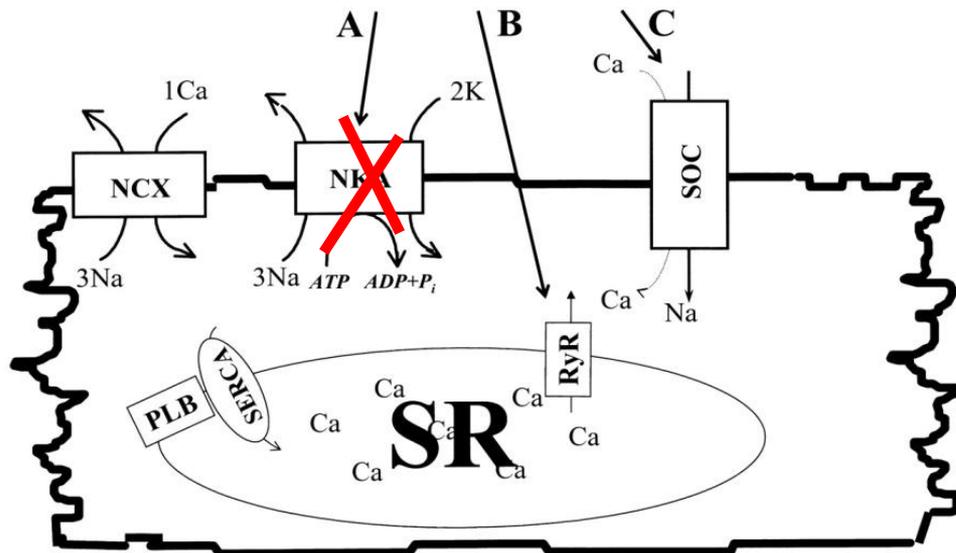
# Каталитическая активность Na/K-АТФазы высокоизбирательно ингибируется сердечными гликозидами

В 1785 году Визеринг сообщил об использовании листьев наперстянки для лечения сердечной недостаточности.

Действующим началом являлся дигитоксин, соединение, относящееся к сердечным гликозидам – группе **стероидных О-гликозидов**.

Наиболее известным соединением этого ряда является **оубаин**.

## Cardiac Glycosides





# Электрогенная функция Na/K-АТФазы

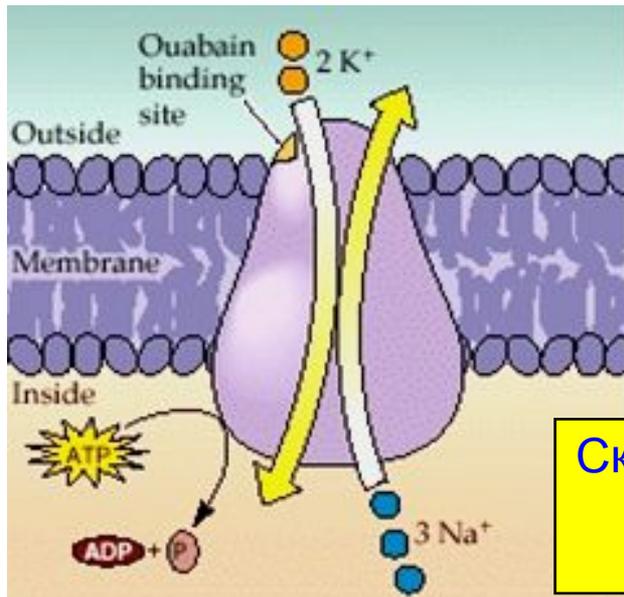
При стехиометрии переноса

$$\gamma = 3/2$$

Работа насоса создает  
выходящий ток катионов (Na)



**ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИЯ  
МЕМБРАНЫ**  
(«электрогенность»)



$$M_{Na}/M_K = 3/2$$

Скорость работы насоса :  
~150 - 600 Na<sup>+</sup>/сек

Факторы, влияющие на величину дополнительной гиперполяризации (за счет электрогенной компоненты работы насоса):

- Плотность молекул насоса на мембране
- Интенсивность работы насоса (по сравнению с другими токами через мембрану)
- Входное сопротивление мембраны клетки
- Величина  $PP_0$

Рассчитывая число выносимых зарядов (+) каждой молекулой, среднюю плотность молекул насоса на мембране (нейрона или аксона), вычислили плотность электрического тока, создаваемого работой насоса **~1 мкА/см<sup>2</sup>**

Наличие наряду с пассивными токами калия и натрия ( $P_K$  и  $P_{Na}$ ) еще и **активных потоков** (за счет работы насоса) – вклад которых оценивается через **стехиометрический коэффициент  $\gamma$**  – реально влияет на конечную величину - **СУММАРНОГО** потока калия и **СУММАРНОГО** потока натрия, а значит – и суммарной проницаемости -  $P'_{Na}$  и  $P'_K$

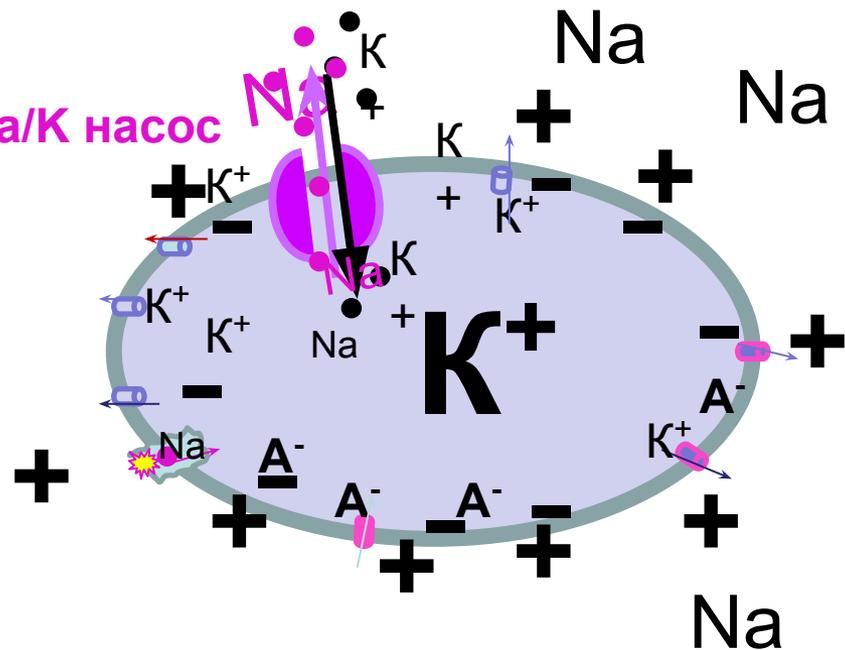
В таком случае наиболее полное и корректное математическое написание  $V_m$  должно включать коэффициент  $\gamma$

$$V_M = \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{P_K [K^+]_в + P_{Na} / \gamma [Na^+]_в}{P_K [K^+]_н + P_{Na} / \gamma [Na^+]_н}$$

# ИТАК, клетка заряжена в ПОКОЕ («прибор включен»), но что же тогда такое ВОЗБУЖДЕНИЕ???

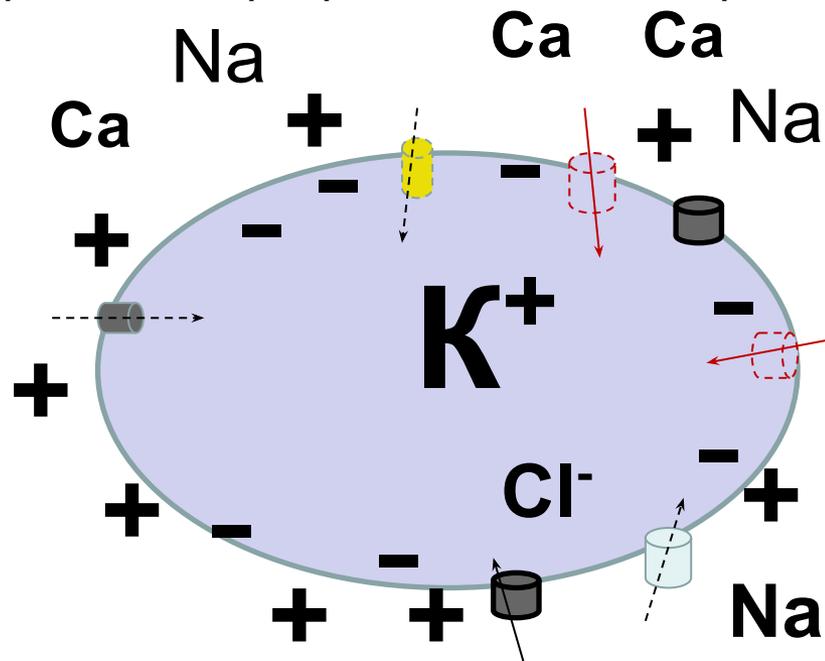
ГИПОТЕЗА:

## НЕВОЗБУДИМАЯ КЛЕТКА



**МП = - 90 мВ**

**ВОЗБУДИМАЯ КЛЕТКА**  
при возбуждении клетка **ТЕРЯЕТ**  
избирательную проницаемость? что  
приводит к разрядке конденсатора???



**МП = - 90 мВ → 0 мВ**

Это приводит к исчезновению потенциала на мембране

Спасибо за внимание...

Вопросы???

