

Биофизика мембран.

1. Основные функции биологических мембран.
2. Физическое состояние и фазовые переходы липидов в мембранах. Молекулярная конструкция клеточной мембраны.
3. Современное представление о структуре мембраны.
4. Липосомы. Строение и свойства липосом и везикул.
 - Применение липосом и везикул.
 1. В фундаментальных научных исследованиях
 2. В фармакологии и медицине
 3. В косметике

Транспорт веществ через биологические мембраны.

Пассивный транспорт неэлектролитов и электролитов.

Пассивный транспорт электролитов.

- Химическим потенциалом данного вещества
- стандартный химический потенциал
- Электрхимический потенциал
- уравнению Теорелла Плотность потока вещества
- уравнение Нернста-Планка Диффузия

Пассивный транспорт неэлектролитов Мембранные белки.

- Простая диффузия. Уравнение Фика
- Градиент концентрации. Простая диффузия
- Виды простой диффузии.
 1. через липидный бислой:
 2. через пору в липидном бислое и белковую пору
 3. Виды облегченной диффузии:
 - с подвижными переносчиками.
 - с фиксированными переносчиками.
 - Отличия облегченной диффузии от простой:

Фильтрация. Осмос.

Структура ионного канала. Виды каналов.

Активный транспорт ионов через клеточную мембрану. Схема K-Na насоса.

Липидные поры: стабильность и проницаемость мембран.

Мембранный потенциал.

Способы измерения мембранного потенциала. Модель Доннана

Условия возникновения мембранного потенциала. Уравнение Нернста.

Уравнение Гольдмана-Ходжкина.

Ионный канал. Основные свойства ионных каналов:

Потенциал действия.

Распространение нервного импульса вдоль аксона.

Литература:

Клеточные мембраны, структура, свойства

1. Основные функции биологических мембран.

Основным структурным элементом живой системы, способным к самостоятельному существованию, развитию и воспроизведению, является живая клетка - основа строения всех животных и растений. Важнейшими условиями существования клетки (и клеточных органелл) являются, с одной стороны, автономность по отношению к окружающей среде (вещество клетки не должно смешиваться с веществом окружения, должна соблюдаться автономность химических реакций в клетке и ее отдельных частях); и с другой стороны — связь с окружающей средой (непрерывный, регулируемый обмен веществом и энергией между клеткой и окружающей средой). Живая клетка - открытая система.

Единство автономности от окружающей среды и одновременно тесной связи с окружающей средой — необходимое условие функционирования живых организмов на всех уровнях их организации, поэтому важнейшее условие существования клетки и, следовательно, жизни - нормальное функционирование биологических мембран.

Каждая клетка окружена наружной мембраной, которую называют *плазматической мембраной* (плазмолеммой, цитолеммой). Ей придают первостепенное значение в организации жизни: «...только после образования мембраны вокруг всей клетки мы действительно имеем то, что с полным правом может быть названо организмом» (Дж. Бернал, 1968).

Клеточная мембрана — это ультратонкая пленка на поверхности клетки или клеточной органеллы, состоящая из бимолекулярного слоя липидов с встроенными белками и полисахаридами.

Существуют три основные функции биологических мембран:

- *барьерная* — обеспечивает селективный, регулируемый, пассивный и активный транспорт веществ;
- *матричная* — обеспечивает определенное взаимное расположение и ориентацию мембранных ферментов относительно субстратов с целью реализации их оптимального взаимодействия;
- *механическая* — обеспечивает прочность и автономность клетки и внутриклеточных структур. С учетом этого биологические мембраны опосредуют:

- синтез АТФ на внутренних мембранах митохондрий и фотосинтез в мембранах хлоропластов;
- генерацию и проведение биопотенциалов;
- рецепторную (механическая, акустическая, обонятельная, зрительная, химическая, терморцепция — мембранные процессы) и многие другие функции.

Общая площадь всех биологических мембран в организме человека достигает десятков тысяч квадратных метров. Относительно большая совокупная площадь мембран объясняет их уязвимость при действии факторов внешней среды, таких как облучение, высокая (при ожоге) и низкая (при обморожении) температура, обезвоживание и др.

Суммарная масса внутриклеточных мембран достигает $\frac{2}{3}$ общей массы обезвоженной клетки. Эти мембраны образуют огромную поверхность. Так, печень крысы, имеющая массу около 6 г, обладает столь обширной сетью внутриклеточных мембран, что их суммарная площадь достигает тысячи квадратных метров. Есть органы, в клетках которых эта величина еще значительнее. Замечено, что по мере увеличения отношения суммарной площади мембран к объему клетки повышается интенсивность обменных процессов в ней. Наибольшей мембранной поверхностью обладают клетки с интенсивным метаболизмом.

Многие важные для организма процессы протекают на клеточных мембранах, поэтому нарушение мембранных процессов — причина многих патологий. Лечение также во многих случаях связано с воздействием на биологические мембраны.

O₂ C₂ H₂ N₂-составляют 98% клетки.

Ca K P Fe Mg Cl Na- составляют 1,9% и 0,1%-микроэлементы.

Цитоплазма-75-85% H₂O

1. Структура биологических мембран

Биологические мембраны состоят из тонкого слоя фосфолипидов.

Липидная молекула состоит из двух частей:

1. головки(1/4 длины всей молекулы). Головки имеют разнообразную структуру-они либо нейтральны либо заряжены «-«.Головки гидрофильны.

Головка образована одним из таких соединений как холин серин треонин инозин этаноламин и содержит остаток фосфорной кислоты-тело (молекула глицерина или сфингозина).

2. неполярной части-длинные хвосты. Хвосты липидов –длинные цепи из атомов Си H_2 остатки жирных кислот. В хвостах часто встречаются группы CH_3 . Они не имеют зарядов-гидрофобны.

Фосфолипиды амфифильны. Между хвостом и головкой находится связующее звено- остатки глицерина.

В смеси фосфолипидов с водой термодинамически выгодно, чтобы полярные головы были погружены в состоящую из полярных молекул воду, а их неполярные хвосты были бы расположены подальше от воды. Такое расположение молекул соответствует наименьшему значению энергии Гибса по сравнению с другими возможными расположениями молекул.

Состав и структура мембранных белков.

Поскольку большая часть мембранных белков –это ферменты можно предположить что содержание белков в мембране должно быть тем больше чем разнообразнее её ферментативная активность. Миелиновая мембрана выполняющая только функцию изолятора и проявляющая всего два вида ферментативной активности содержит всего лишь 20% белка. Цитоплазматическая мембрана животных клеток, выполняющая наряду с барьерной ролью множество ферментативных функций содержит уже около 50% белка а во внутренней митохондриальной мембране отличающейся наивысшей ферментативной активностью белки составляют 75%. В состав белков входят 20 различных аминокислот.

Первая модель строения биологических мембран была предложена в 1902 г. Было замечено, что через мембраны лучше всего проникают вещества, хорошо растворимые в липидах, и на основании этого было сделано предположение, что биологические мембраны состоят из тонкого слоя фосфолипидов.

В 1925 г. Гортер и Грендел показали, что площадь монослоя липидов, экстрагированных из мембран эритроцитов, в два раза больше суммарной площади эритроцитов. Гортер и Грендел экстрагировали липиды из гемолизированных эритроцитов ацетоном, затем выпаривали раствор на поверхности воды и измеряли площадь образовавшейся мономолекулярной пленки липидов. На основании результатов этих исследований была высказана идея, что липиды в мембране располагаются в виде бимолекулярного слоя.

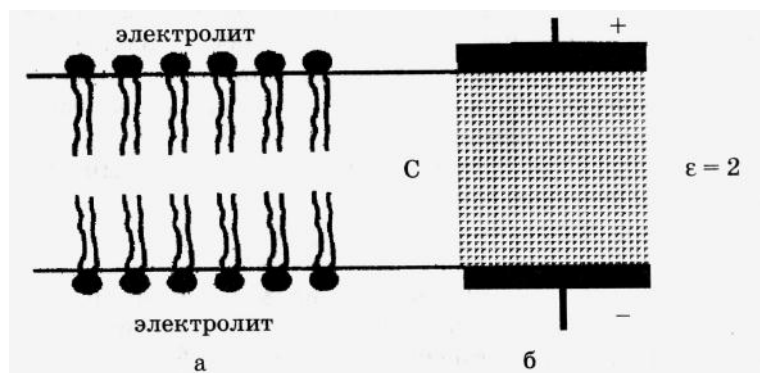


Рис 1 Бимолекулярный слой липидов (а); мембрана как конденсатор (б),
(С - электрическая емкость, ϵ - диэлектрическая проницаемость)

Эту гипотезу подтвердили исследования электрических параметров биологических мембран (Коул и Кертис, 1935 г.): высокое электрическое сопротивление $\approx 10^7 \text{ Ом} \cdot \text{м}^2$ и большая емкость $\approx 0,5 \cdot 10^{-2} \text{ Ф/м}^2$. Такими характеристиками мог обладать только липидный бислой, погружённый в воду. В мембранах содержатся разные фосфолипиды. В мембранах эритроцитов их содержится около 20 видов.

Биологическую мембрану можно рассматривать как электрический конденсатор (рис.1б), в котором пластинами являются электролиты наружного и внутреннего растворов (внеклеточного и цитоплазмы) с погруженными в них головами липидных молекул. Проводники разделены диэлектрическим слоем, образованным неполярной частью липидных молекул - двойным слоем их хвостов. Липиды - диэлектрики с диэлектрической проницаемостью $\epsilon = 2$.

Ёмкость плоского конденсатора: $C = \epsilon \epsilon_0 S/d$, где :

ϵ -диэлектрическая проницаемость липида

$\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12} \text{ Ф/м}$ - диэлектрическая проницаемость вакуума

S-площадь мембраны

d- расстояние между пластинами конденсатора($d = 3,5 \text{ нм}$.)

Можно найти расстояние между пластинами конденсатора: $d = \epsilon \epsilon_0 / C_{\text{уд}}$
 $C_{\text{уд}} = 0,5 \cdot 10^{-2} \text{ Ф/м}^2$ -удельная ёмкость(ёмкость на единицу площади).

Это как раз соответствует по порядку величины толщине неполярной части бимолекулярного слоя липидов, сложенных определенным образом.

Однако мембрана - это не только липидный бислой. Имелись экспериментальные данные, которые свидетельствовали о том, что биологическая мембрана состоит и из белковых молекул. Например, при измерении поверхностного натяжения клеточных мембран было обнаружено, что измеренные значения коэффициента поверхностного натяжения значительно ближе к коэффициенту поверхностного натяжения на границе раздела белок-вода (около 10^{-4} Н/м), нежели на границе раздела липид-вода (около 10^{-2} Н/м). Эти противоречия экспериментальным результатам были устранены Даниелли и Девсоном, предложившими в 1935 г. так называемую бутербродную модель строения биологических мембран,

которая с некоторыми несущественными изменениями продержалась в мембранологии в течение почти 40 лет. Согласно этой модели мембрана - трехслойная. Она образована двумя расположенными по краям слоями белковых молекул с липидным бислоем посередине; образуется нечто вроде бутерброда: липиды, наподобие масла, между двумя "ломтями" белка.

Однако по мере накопления экспериментальных данных пришлось в конце концов отказаться и от бутербродной модели строения биологических мембран.

Огромную роль в развитии представлений о строении биологических мембран сыграло все большее проникновение в биологию физических методов исследования.

Было обнаружено, что имеются белковые молекулы, погруженные в липидный бислой и даже прошивающие его насквозь. Это привело к существенному изменению представлений о строении мембраны.

Физическое состояние и фазовые переходы липидов в мембранах.

Вещество при разных температуре, давлении, концентрациях химических компонентов может находиться в различных физических состояниях, например газообразном, жидком, твердом, плазменном. Кристаллическому твердому состоянию вещества могут соответствовать разные фазовые состояния (кристаллические модификации). В качестве примера разных кристаллических модификаций одного и того же вещества — углерода — можно назвать графит и алмаз.

Характерными, отличительными чертами твердого тела являются собственный объем, форма, механическая прочность; жидкости — собственный объем, отсутствие упругости по отношению к изменению формы и механической прочности, текучесть.

Твердое тело может быть как кристаллическим (имеется дальний порядок в расположении частиц на расстояниях, много превышающих межмолекулярные расстояния — кристаллическая решетка), так и аморфным, например стекло (нет дальнего порядка в расположении атомов и молекул).

Различие между твердым аморфным телом и жидкостью состоит не в наличии или отсутствии дальнего порядка, а в характере движения частиц. И молекулы жидкости, и молекулы твердого тела совершают колебательные (иногда вращательные) движения около положения равновесия. Через некоторое среднее время - «время оседлой жизни» - происходит перескок молекулы в другое положение равновесия. Различие заключается в том, что время оседлой жизни в жидкости намного меньше, чем в твердом теле.

Высокая подвижность липидных молекул обуславливает латеральную (боковую) диффузию.

Латеральная диффузия-это хаотическое тепловое перемещение молекул липидов и белков в плоскости мембраны.

Среднее квадратическое перемещение молекул при диффузии за время t можно оценить по формуле Эйнштейна: $V_{\text{кв}}=2Dt$.

Оказалось что среднее квадратическое перемещение фосфолипидной молекулы за секунду по поверхности мембраны эритроцита соответствует расстоянию 5мкм что сравнимо с размерами клеток. Таким образом за секунду молекула может обежать всю поверхность клетки. Аналогичная величина для белковых молекул составляет около 0.2мкм за секунду. Частота перескока молекул за счёт латеральной диффузии определяется по формуле: $v=2\sqrt{3D/S}$ D-коэффициент латеральной диффузии молекулы.

S-площадь занимаемая одной молекулой на мембране.

t-время оседлой жизни.

Каждая молекула в среднем претерпевает десятки миллионов перескоков в плоскости мембраны за секунду т. е. характерное время одного перескока 10^7-10^8 с.

Исследования показали, что подвижность фосфолипидных молекул в мембране сравнительно велика, а вязкость мала. Вязкость липидной мембраны сравнима с вязкостью подсолнечного масла и равна (30-100)мПас.

Флип-флоп-это диффузия молекул мембранных фосфолипидов поперёк мембраны. Перескоки молекул с одной поверхности бислоя на другую совершаются значительно медленнее, чем перескоки при латеральной диффузии. Среднее время, через которое фосфолипидная молекула совершает флип-флоп (t=1 час) в десятки миллиардов раз больше среднего времени, характерного для перескока молекулы из одного места в соседнее в плоскости мембраны.

Сочетание быстрой диффузии молекул вдоль мембраны и очень медленной поперёк мембраны имеет большое значение для функционирования мембран а именно для матричной функции мембраны. Благодаря затруднённому переходу поперёк мембраны поддерживается упорядоченность в молекулярной структуре мембраны её анизотропия- асимметрия (относительно плоскости мембраны) расположения липидных и белковых молекул, определённая ориентация белков-ферментов поперёк мембраны. Это имеет большое значение, например для направленного переноса веществ через мембрану.

Липидные бислоиные мембраны при физиологических условиях — жидкие, время оседлой жизни фосфолипидных молекул в мембране мало порядка 10^7-10^8 с. Вместе с тем молекулы в мембране размещены не беспорядочно, в их расположении наблюдается дальний порядок. Фосфолипидные молекулы находятся в двойном слое, а их гидрофобные хвосты приблизительно параллельны друг другу. Есть порядок и в ориентации полярных гидрофильных голов (рис.).

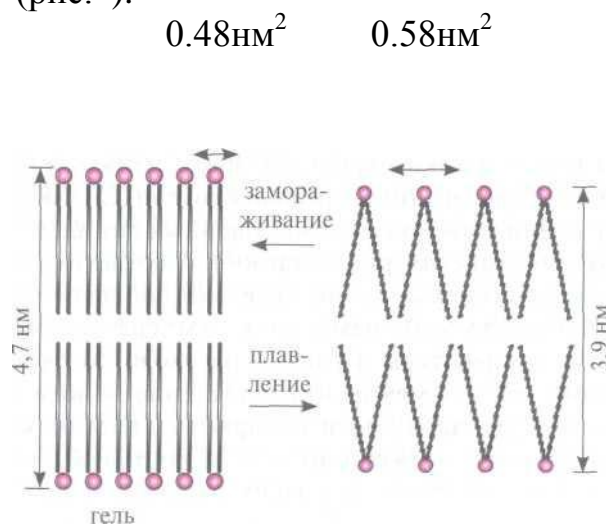
Физическое состояние, при котором есть дальний порядок во взаимной ориентации и расположении молекул, но агрегатное состояние жидкое, называется жидкокристаллическим состоянием.

Жидкие кристаллы могут образовываться не во всех веществах, а в веществах из «длинных молекул» (поперечные размеры которых меньше продольных). Могут быть различные жидкокристаллические структуры: нематическая (нитевидная), когда длинные молекулы ориентированы параллельно друг другу; смектическая (мылообразная) - молекулы параллельны друг другу и располагаются слоями; холестерическая — молекулы располагаются параллельно друг другу в одной плоскости, но в разных плоскостях ориентации молекул разные (повернуты на некоторый угол в одной плоскости относительно другой).

Бислойная липидная фаза биологических мембран соответствует смектическому жидкокристаллическому состоянию.

Жидкокристаллические структуры очень чувствительны к изменению температуры, давления, химического состава, электрическому полю. Это определяет динамичность липидных бислойных мембран - изменение их структуры при различных, даже небольших изменениях внешних условий или химического состава. При изменении условий вещество может перейти в другое фазовое состояние (например, из газообразного в жидкое, из жидкого в твердое, из одной кристаллической модификации в другую).

Липидная часть биологических мембран при определенных температурах испытывает фазовый переход первого рода. В фосфолипидной мембране при понижении температуры происходит переход из жидкокристаллического в гель-состояние, которое условно иногда называют твердокристаллическим (рис.).



В гель-состоянии молекулы расположены еще более упорядочено, чем в жидкокристаллическом. Все гидрофобные углеводородные хвосты фосфолипидных молекул в гель-фазе полностью вытянуты строго параллельно друг другу (имеют полностью транс-конформацию). В жидком кристалле за счет теплового движения возможны транс-гош-переходы, хвосты молекул изгибаются, их параллельность друг другу в отдельных местах нарушается, особенно сильно в середине мембраны.

Толщина мембраны в гель-фазе поэтому больше, чем в жидком кристалле (см. рис.), однако при переходе из твердого в жидкокристаллическое состояние объем несколько увеличивается, потому

что значительно увеличивается площадь, приходящаяся на одну молекулу (от 0,48 до 0,58 нм²). Так как в твердокристаллическом состоянии больше порядок, чем в жидком кристалле, ему соответствует меньшая энтропия.

Для нормального функционирования мембрана должна быть в жидкокристаллическом состоянии, поэтому в живых системах при продолжительном понижении температуры окружающей среды наблюдается адаптационное изменение химического состава мембран, обеспечивающее понижение температуры фазового перехода.

Температура фазового перехода понижается при увеличении числа ненасыщенных связей в жирнокислотных хвостах. В зависимости от химического состава липидных мембран температура фазового перехода гель — жидкий кристалл может меняться от — 20 °С (для мембран из ненасыщенных липидов) до +60 °С (для насыщенных липидов). Увеличение числа ненасыщенных липидов в мембране при понижении температуры обитания наблюдается у микроорганизмов, растительных и животных клеток. Любопытный пример приспособления клеточных мембран к температурным условиям — изменение температуры фазового перехода (за счет изменения химического состава мембранных липидов) — ноги полярного оленя. Температура вдоль ноги полярного оленя от копыта до туловища может зимой меняться от -20 °С до +30 °С. Клеточные мембраны у дистальной части ноги оленя содержат больше ненасыщенных фосфолипидов.

По-видимому, первичный механизм криоповреждений (повреждений при охлаждениях) биологических мембран связан с фазовым переходом в геле-состояние, поэтому биологические мембраны теплокровных животных содержат большое количество холестерина, уменьшающего структурные изменения в мембране, сопровождающие фазовый переход.

У некоторых микроорганизмов биологические мембраны находятся при температурах, лишь немного превышающих температуру фазовых переходов липидов. Мембрана содержит десятки разных липидов, которым соответствуют разные температуры фазового перехода, в том числе близкие к физиологическим. При понижении температуры в мембране происходят фазовые превращения в липидном бислое.

При фазовых переходах из жидкокристаллического состояния в гель в липидном бислое образуются сквозные каналы радиусом 1—3 нм, по которым через мембрану могут переноситься ионы и низкомолекулярные вещества. Вследствие этого при температуре фазового перехода резко увеличивается ионная проводимость мембраны.

Увеличение ионной проводимости мембран может спасти клетку от криоповреждений за счет увеличения выхода из клетки воды и солей — привести к нарушению ее барьерной функции, что препятствует кристаллизации воды внутри клетки. Повышение ионной проводимости мембран при фазовом переходе, возможно, позволяет поддерживать метаболический обмен некоторых микроорганизмов. Большой интерес представляет этот эффект для объяснения термо- и хеморецепции.

Известно, что перенос ионов через мембрану лежит в основе формирования биопотенциалов, изменение ионной проводимости обуславливает нервный импульс. Не исключено, что нервный импульс, свидетельствующий о понижении или повышении температуры, образуется за счет изменения ионной проницаемости липидного бислоя при фазовом переходе мембранных липидов.

По-видимому, и некоторые виды хеморецепции могут быть связаны с фазовым переходом мембранных липидов, поскольку фазовый переход может быть вызван не только изменением температуры, но и изменением химического состава окружающей среды. Например, доказано, что при данной температуре фазовый переход из жидкокристаллического состояния в гель-состояние может быть вызван увеличением концентрации Ca^{2+} в физиологическом диапазоне от 1 до 10 ммоль/л в водном растворе, окружающем заряженную мембрану.

2. Современное представление о структуре мембраны

Молекулярная конструкция клеточной мембраны

Совокупность результатов, полученных физическими и химическими методами исследования, дала возможность предложить новую жидкостно-мозаичную модель строения биологических мембран (Сингер, Никольсон 1972г.). Согласно Сингеру и Никольсону, структурную основу биологических мембран образует двойной слой **фосфолипидов**, инкрустированный **белками** (рис 1).

1. Липиды находятся при физиологических условиях в жидком агрегатном состоянии.

Это позволяет сравнивать мембрану с фосфолипидным морем, по которому плавают белковые «айсберги». Молекула фосфолипида лицетина содержит полярную голову (производную фосфорной кислоты) и длинный неполярный хвост (остатки жирных кислот). В мембранах содержатся разные фосфолипиды. Например, в мембране эритроцитов их около 20 видов.

Углеводородные хвосты фосфолипидной молекулы содержат приблизительно около 20 атомов углерода, в хвосте может быть 1-4 двойных ненасыщенных связей.

Полярные головы молекул фосфолипидов - *гидрофильны*, а их неполярные хвосты - *гидрофобны*. Очень существенным является то обстоятельство, что молекулы фосфолипидов имеют два хвоста. Фосфолипидные молекулы, лишённые одного из хвостов, образуют поры в бислоевой мембране, нарушается барьерная функция мембран

Мембранные белки

Различают **поверхностные** (или периферические) и **интегральные** белки.

В липидный каркас клеточной мембраны встроены ее белковые компоненты (протеины). На клетку приходится в среднем 10 пг мембранных протеинов. Различают *периферические* и *собственные (интегральные)* белки биомембран. Белки первого типа расположены на поверхности липидного бислоя. Связь между липидными и белковыми молекулами осуществляется здесь электростатическим взаимодействием между противоположными полюсами полярных групп этих веществ. Мембранные протеины второго типа взаимодействуют своими гидрофобными областями с углеводородными цепочками липидов за счет ван-дер-ваальсовых сил. Из-за большой прочности таких связей интегральный белок можно выделить из БМ только при разрушении липидного бислоя. Следовательно, собственные белки являются жирорастворимыми. Это «антибелок», так как у интегрального протеина все гидрофильные области спрятаны внутри молекулы, а наружу направлены неполярные группы. Поэтому собственные белки погружены в липидный слой БМ полностью или частично, причем крупные белковые молекулы пронизывают его насквозь. В этом случае с одной молекулой протеина непосредственно взаимодействует несколько десятков липидных молекул.

Кроме фосфолипидов и белков, в биологических мембранах содержатся и другие химические соединения, например **гликолипиды и гликопротеиды**.

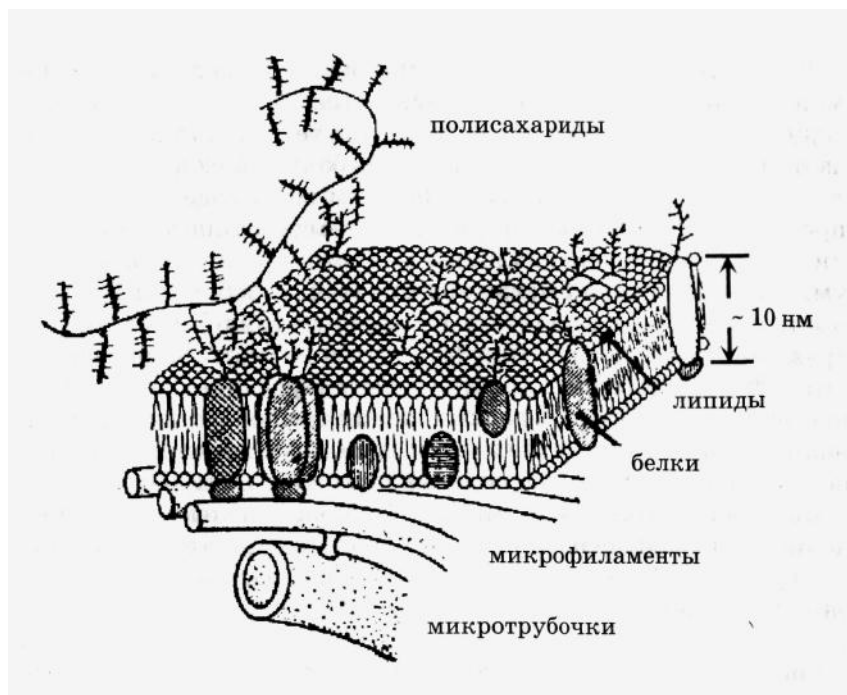
Жидкостно-мозаичная модель мембраны в настоящее время общепринята.

Однако она даёт довольно упрощённую картину строения мембраны. В частности, обнаружено, что белковые «айсберги» не всегда свободно плавают в липидном море, а могут быть «заякорены» на внутренние (цитоплазматические) структуры клетки. К таким структурам относятся **миктофиламенты и микротрубочки**.

Микротрубочки-полые цилиндры диаметром около 300нм из особого белка (турбулина) играют важную роль в функционировании клетки.

Совокупность результатов, полученных физическими и химическими методами исследования, дала возможность предложить новую жидкостно-мозаичную модель строения биологических мембран (Сингер и Никольсон, 1972 г.). Согласно Сингеру и Никольсону, структурную основу биологической мембраны образует двойной слой фосфолипидов, инкрустированный белками (рис. 1.2). Различают поверхностные (или периферические) и интегральные белки.

Липиды находятся при физиологических условиях в жидком агрегатном состоянии. Это позволяет сравнить мембрану с фосфолипидным морем, по которому плавают белковые "айсберги". Одним из подтверждений жидкостно-мозаичной модели является и тот факт, что, как установил химический анализ, в разных мембранах соотношение между содержанием белков и фосфолипидов сильно варьирует: в миелиновой мембране белков в 2,5 раза меньше, чем липидов, а в эритроцитах, напротив, белков в 2,5 раза



больше, чем липидов. При этом, согласно современной модели, соотношение количества белков и липидов во всех мембранах должно быть примерно одинаково. Тот факт, что не вся поверхность биологической мембраны покрыта белками, показал и метод ядерного магнитного резонанса. Так, например, более чем половина поверхности мембраны кишечной палочки образована полярными головами липидов.

Кроме фосфолипидов и белков, в биологических мембранах содержатся и другие химические соединения. В мембранах животных клеток много холестерина (в сравнимом количестве с фосфолипидами и белками). Есть в мембранах и другие вещества, например гликолипиды, гликопротеиды.

Жидкостно-мозаичная модель строения мембраны в настоящее время общепринята. Однако, как всякая модель, она дает довольно упрощенную картину строения мембраны. В частности, обнаружено, что белковые "айсберги" не всегда свободно плавают в липидном море, а могут быть "заякорены" на внутренние (цитоплазматические) структуры клетки. К таким структурам относятся микрофиламенты и микротрубочки (рис.).

Микротрубочки - полые цилиндры диаметром около 300 нм из особого белка (тубулина) играют, по-видимому, важную роль в функционировании клетки.

Выяснилось также, что не все липиды в мембране расположены по принципу бислоя. Физические методы исследования показали, что липидная фаза мембран содержит также участки, где липидные молекулы не образуют двойной слой.

Изучением сложного химического состава мембран, мембранных белков и других веществ занимается биохимия. Основная область приложения биофизики - структурная основа мембраны, а именно двойной слой фосфолипидных молекул.

Молекула фосфолипида лецитина содержит полярную голову (производную фосфорной кислоты) и длинный неполярный хвост (остатки жирных кислот). В голове фосфолипидной молекулы лецитин имеются две заряженные группы, расположенные на некотором расстоянии друг от друга. Два разноименных заряда, равные по абсолютной величине, образуют электрический диполь.

В мембранах содержатся разные фосфолипиды. Например, в мембране эритроцитов их около 20 видов. Варьирует химическая формула полярной головы молекулы. У некоторых фосфолипидов головы кроме двух зарядов противоположного знака, создающих дипольный момент, но оставляющих молекулу в целом нейтральной, несут один некомпенсированный отрицательный заряд, вследствие чего молекула оказывается заряженной отрицательно. Углеводородные хвосты фосфолипидной молекулы содержат приблизительно 20 атомов углерода, в хвосте может быть 1-4 двойных ненасыщенных связей.

Полярные головы молекул фосфолипидов - гидрофильны, а их неполярные хвосты - гидрофобны. В смеси фосфолипидов с водой термодинамически выгодно, чтобы полярные головы были погружены в состоящую из полярных молекул воду, а их неполярные хвосты были бы расположены подальше от воды. Такое расположение амфифильных (имеющих и гидрофильную, и гидрофобную части) молекул соответствует наименьшему значению энергии Гиббса по сравнению с другими возможными расположениями молекул.

Очень существенным является то обстоятельство, что молекулы фосфолипидов имеют два хвоста. Такая молекула в пространстве имеет форму, близкую к цилиндру. Из молекул фосфолипидов в водной среде происходит самосборка бислоевой мембраны. Присутствие молекул с одним хвостом (лизолецитин), имеющих в пространстве форму, близкую к конусу, разрушает клеточные мембраны. Фосфолипидные молекулы, лишённые одного из хвостов, образуют поры в бислоевой мембране, нарушается барьерная функция мембран.

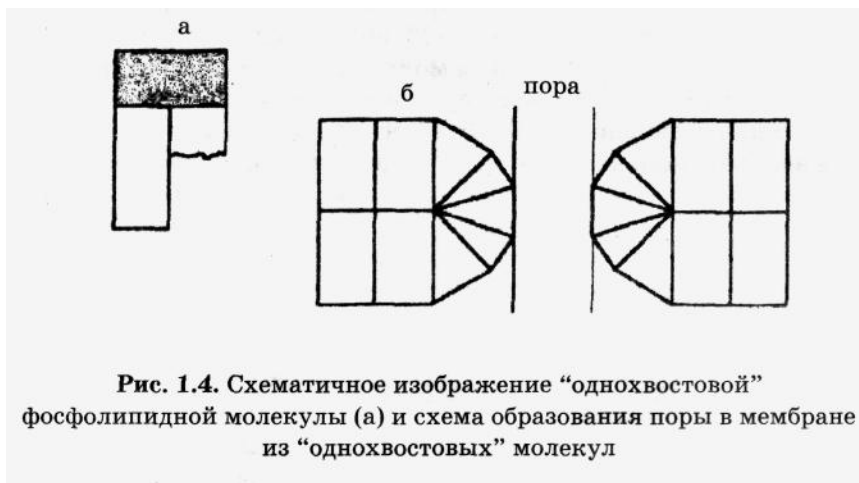


Рис. 1.4. Схематичное изображение “однохвостовой” фосфолипидной молекулы (а) и схема образования поры в мембране из “однохвостовых” молекул

Липосомы

СТРОЕНИЕ ЛИПОСОМ И ВЕЗИКУЛ

Липосомы получают обычно при набухании сухих фосфолипидов в воде или при впрыскивании раствора липидов в воду. При этом происходит самосборка бимолекулярной липидной мембраны. При обработке суспензий ультразвуком образуются пузырьки со стенками, состоящими из бимолекулярного липидного слоя. Минимуму энергии Гиббса отвечает замкнутая сферическая одноламеллярная форма мембраны. При этом все неполярные гидрофобные хвосты находятся внутри мембраны и ни один из них не соприкасается с полярными молекулами воды.

Первые липосомы были получены из фосфолипидов. Основная роль фосфолипидов в клетке — быть структурными компонентами мембран. По своему химическому строению они относятся к группе так называемых амфифильных соединений, молекулы которых состоят из двух частей, радикальным образом различающихся по своему отношению к водному окружению (рис. 1). Такое "раздвоение личности" придает фосфолипидным молекулам замечательное свойство самопроизвольно образовывать в воде мембраны, которые представляют собой двойной слой липидных молекул, обычно называемый просто липидным бислоем. Стремление максимально ограничить контакт неполярных цепей липида с водой приводит к тому, что бислоем при его достаточной протяженности замыкается сам на себя, образуя полые оболочечные структуры, получившие название везикулы (от англ. vesicle - маленький пузырек).

Часто слова "липосомы" и "липидные везикулы" используют как синонимы. Однако исторически липосомами впервые были названы частицы, образующиеся при механическом диспергировании взвеси набухших

фосфолипидов в воде. Эти частицы являются многослойными, и потому их иногда называют мультислойными везикулами (МЛВ). Они состоят из нескольких десятков, а то и сотен липидных бислоев, разделенных водными промежутками (рис. 2), и имеют довольно крупные размеры (до 50 мкм). На другом полюсе обширного липосомного семейства находятся самые маленькие везикулы (около 20 нм), образованные одним липидным бислоем и называемые малыми моноламеллярными везикулами (ММВ). Между этими двумя крайностями лежит целое поле разнообразных липосомных структур, различающихся размерами, формой, числом липидных бислоев и внутренним устройством. Внешне липосомы не всегда выглядят как глобулярные частицы. Иногда они принимают уплощенную дискообразную форму (так называемые дискомы) или имеют вид очень длинных и тонких трубок, которые называют тубулярными липосомами.

СВОЙСТВА ЛИПОСОМ И ВЕЗИКУЛ

Свойства липосом и их поведение определяются прежде всего наличием у них замкнутой мембранной оболочки. Несмотря на молекулярную толщину (около 4 нм), липидный бислой отличается исключительной механической прочностью и гибкостью. В жидкокристаллическом состоянии бислоя его компоненты обладают высокой молекулярной подвижностью, так что в целом мембрана ведет себя как достаточно жидкая, текучая фаза. Благодаря этому липосомы сохраняют целостность при различных повреждающих воздействиях, а их мембрана обладает способностью к самозалечиванию возникающих в ней структурных дефектов. Вместе с тем гибкость бислоя и его текучесть придают липосомам высокую пластичность. Так, липосомы меняют размеры и форму в ответ на изменение осмотической концентрации внешнего водного раствора. При сильном осмотическом стрессе целостность бислоя может нарушиться и липосомы могут раздробиться на частицы меньшего размера.

Для практического применения липосом и везикул исключительно важна их способность включать в себя и удерживать вещества различной природы. Это может быть сделано разными способами (рис. 3). Круг веществ, включаемых в липосомы, необычайно широк - от неорганических ионов и низкомолекулярных органических соединений до крупных белков и нуклеиновых кислот. Хотя липосомы достаточно прочны и стабильны в широком диапазоне условий, их можно легко разрушить до мицеллярного состояния с помощью поверхностно-активных веществ, относящихся к разряду детергентов (то есть моющих средств). Этот процесс, называемый солюбилизацией, является обратимым, и липосомы вновь формируются, если детергент удалить из мицеллярного раствора. Самосборку мембран путем удаления солюбилизирующего детергента обычно применяют для встраивания интегральных мембранных белков в липидный бислой, называя этот

процесс реконструкцией, а получаемые при этом белоксодержащие липосомы — протеолипосомами.

Применение липосом и везикул

- **В фундаментальных научных исследованиях**

Первое применение липосом в научных исследованиях было связано с моделированием клеточных мембран. С помощью липосом были установлены основные закономерности транспорта веществ через мембрану, показана важная роль фазовых переходов в функционировании мембран, определены молекулярные параметры липидного бислоя и его динамические характеристики, изучены процессы слияния мембран, в реконструированных системах были охарактеризованы индивидуальные мембранные белки и целые белковые ансамбли.

Для химиков бислойные везикулы интересны как микрореакторы, позволяющие проводить химические реакции в ориентированных средах с возможностью пространственного разделения реагентов и продуктов реакции посредством мембран. Специалистам в области материаловедения липосомы представляются прекрасной основой для создания новых композитных материалов с высокой биосовместимостью. Липосомы и везикулы в качестве объекта исследования обещают в будущем много интересных открытий.

- **В фармакологии и медицине**

В настоящее время это, пожалуй, наиболее активно развивающееся направление практического использования липосом. Способность липосом включать в себя самые разные вещества практически без каких-либо ограничений в отношении их химической природы, свойств и размера молекул дает поистине уникальные возможности для решения некоторых медицинских проблем. Так, многие лекарственные препараты имеют низкий терапевтический индекс. Это означает, что концентрация, в которой они оказывают лечебное действие, мало отличается от концентрации, при которой препарат становится токсичным. В других случаях лекарственный препарат при введении в организм может быстро терять активность под действием инактивирующих агентов. Включение таких препаратов в липосомы может значительно повысить их терапевтическую эффективность, поскольку, с одной стороны, препарат, находящийся в липосоме, защищен ее мембраной от действия неблагоприятных факторов, а с другой — та же мембрана не позволяет токсичному препарату превысить допустимую концентрацию в биологических жидкостях организма. Липосома в данном случае выполняет роль хранилища, из которого препарат высвобождается постепенно, в нужных дозах и в течение требуемого промежутка времени.

С точки зрения биологической совместимости липосомы идеальны как переносчики лекарственных препаратов. Они делаются из природных

липидов и поэтому нетоксичны, не вызывают нежелательных иммунных реакций и биodeградируемы, то есть должны разрушаться под действием обычных ферментов, присутствующих в организме. Однако ситуация с терапевтическим применением липосом не так проста, как хотелось бы. Оказалось, что липосомы недостаточно стабильны в крови и быстро выводятся из кровотока макрофагами, которые находятся в печени, селезенке и костном мозгу. По этой же причине липосомные носители обычно не удается направить именно в те органы и ткани, где происходит патологический процесс.

Так, естественная нацеленность макрофагов на липосомы может быть использована для их активации, что очень полезно для борьбы с вирусными, бактериальными и грибковыми инфекциями. Тот факт, что липосомы не задерживаются такими органами, как сердце, почки, мозг, а также клетками нервной системы, позволяет за счет использования липосомных лекарственных форм значительно снизить кардиотоксичность, нефротоксичность и нейротоксичность ценных препаратов, применяемых для противораковой терапии. Кроме того, прикрепление к поверхности липосом молекул, специфичных по отношению к клеткам-мишеням (например, иммуноглобулинов), в некоторых случаях оказывается эффективным для направленной доставки противораковых, противоинфекционных и противовоспалительных препаратов. Проблема доставки лекарства в нужное место может быть также решена путем местного применения липосомных препаратов, как это было сделано в случае противоартритных препаратов, а также препаратов для лечения дыхательного синдрома новорожденных и астмы.

Все эти приемы были предложены для обычных липосом, время пребывания которых в кровотоке невелико (от нескольких минут до нескольких часов). И поэтому они не решали общей проблемы преодоления естественных барьеров для липосом в организме, основным из которых является печень.

Решение проблемы оказалось довольно неожиданным и достаточно простым. Выяснилось, что клетки, вылавливающие липосомы из крови, можно обмануть, сделав поверхность липосом сильно гидрофильной за счет ковалентно связанного синтетического полимера полиэтиленгликоля. В результате время жизни липосом в кровотоке превысило вдвое суток. Но, что более важно, такие липосомы постепенно накапливались в тех местах, где кровеносные сосуды имели дефекты, то есть были повреждены, обладали повышенной проницаемостью или вообще были плохо развиты, что обычно характерно для опухолей и окружающих их тканей, а также при инфекционных и воспалительных процессах. Необычные свойства полиэтиленгликоль-содержащих липосом и их высокая терапевтическая эффективность настолько поразили исследователей, что эти липосомы получили образное название "липосомы-невидимки" (stealth liposomes)

аналогично известному самолету-невидимке "стеле", который не удастся обнаружить с помощью радарных устройств.

Применение липосом в медицине не ограничивается традиционной химиотерапией. Липосомы более перспективны в сочетании с новым поколением лекарств, созданных благодаря успехам белковой и генетической инженерии. Как известно, генетическая инженерия основана на введении фрагментов ДНК в клетки, с тем чтобы заставить их продуцировать нужные белки или полипептиды. Использование для этой цели липосом, содержащих лечебные гены, может оказаться полезным для терапии наследственных заболеваний, которые обусловлены дефектами генов, кодирующих жизненно важные белки. С помощью липосом в организм могут быть также введены различные белки, в частности ферменты, с целью энзимотерапии и цитокины для коррекции иммунного статуса организма. Весьма серьезные работы ведутся по созданию гемоглобин-содержащих липосом (гемосом) с целью получения искусственных заменителей крови.

Успехи в разработке и применении липосомных препаратов медицинского назначения велики. В настоящее время они являются предметом пристального внимания со стороны многих фармацевтических компаний. Средства в эту область. И по-видимому, недалеко то время, когда в клиниках и на аптечных прилавках будут широко представлены разнообразные липосомные препараты, предназначенные для лечения болезней, которые сегодня кажутся неизлечимыми.

- **В косметологии**

В 1987 году две известные косметические компании создали новый продукт, явившийся плодом усилий их исследовательских лабораторий. Это были липосомный гель "Каптюр" фирмы "Кристиан Диор" и крем для кожи под названием "Ниосомы" фирмы "Л'Ореаль". В последующие годы в продаже появилось несколько сот аналогичных продуктов. Почти каждая уважающая себя косметическая фирма считала своим долгом предложить покупателю изделия, изготовленные на основе липосом. И сегодня это, пожалуй, самая продвинутая в коммерческом отношении область их практического применения.

В основе липосомного косметического бума лежат два обстоятельства. Во-первых, медицинские требования к препаратам для кожного применения являются значительно менее жесткими, чем в случае препаратов, применяемых парентерально, то есть вводимых в организм с помощью инъекций. И поэтому путь таких препаратов от исследовательской лаборатории до потребителя занимает значительно меньшее время и обходится производителю намного дешевле. Во-вторых, для косметических целей пригодны самые простые липосомы, производство которых не требует сложного технологического оборудования и дорогостоящих исходных материалов.

В ассортименте липосомной косметики имеются кремы для повседневного ухода за кожей, кремы, предотвращающие ее старение, средства для ухода за кожей после бритья, кондиционеры для волос, духи с длительно сохраняющимся запахом, губная помада, солнцезащитные кремы, средства для загара, грим, интимная и декоративная косметика. Основу всех этих препаратов составляет водная дисперсия липосом, как правило многослойных, которые благодаря способности удерживать воду являются прекрасным увлажняющим агентом. Для усиления полезных эффектов в рецептуру вводят добавки различных биологически активных веществ, таких, как витамины, антибиотики, белковые экстракты,

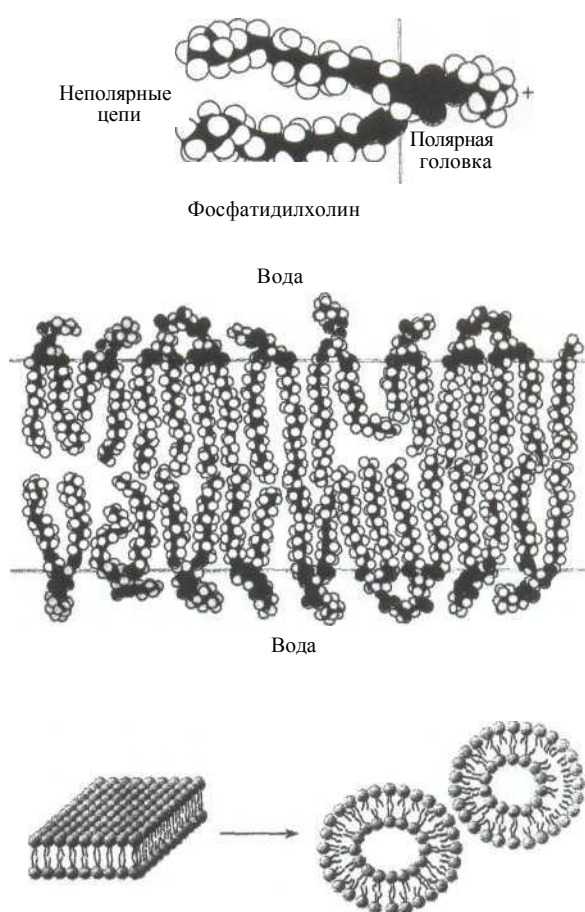


Рис. 1. Химическое строение фосфолипидов, структура липидного бислоя и формирование липосом. В качестве примера приведена структура фосфатидилхолина, являющегося основным компонентом многих биологических мембран. Видно, что его молекула имеет гидрофильную полярную головку, обладающую сродством к воде, и неполярные углеводородные цепи, придающие этой части молекулы гидрофобный, то есть водоотталкивающий характер. В бислое гидрофобные цепи липидных молекул обращены друг к другу и образуют внутреннюю неполярную область мембраны, в то время как их полярные головки находятся на поверхности мембраны и экранируют углеводородные цепи от контакта с водой. Стремление полностью исключить контакт цепей с водой приводит к замыканию плоского бислоя в сферические везикулы

Транспорт веществ через биологические мембраны

Живые системы на всех уровнях организации – открытые системы. Поэтому транспорт веществ через биологические мембраны – необходимое условие жизни. С переносом веществ через мембраны связаны процессы метаболизма клетки, биоэнергетические процессы, образование биопотенциалов, генерация нервного импульса и др. Нарушение транспорта веществ через биомембраны приводит к различным патологиям. Лечение часто связано с проникновением лекарств через клеточные мембраны. Эффективность лекарственного препарата в значительной степени зависит от проницаемости для него мембраны.

Территория клетки отделена от внешней среды тонкой мембраной.

Организованная в сложную мозаичную структуру, она защищает клетку от вирусов и токсических соединений, позволяет точно регулировать реакции обмена веществ и предотвращает утечку необходимых ионов и метаболитов. Но непроницаемые оболочки- препятствие для проникновения в цитоплазму не только нежелательных, но и необходимых клетке соединений. В процессе жизнедеятельности она должна извлекать из окружающей среды питательные вещества, витамины, кислород, ионы одновалентных металлов, микроэлементы и многое другое, без чего не может существовать ни один живой организм.

Эти вещества должны преодолеть плазматическую и внутренние мембраны и оказаться в том месте, где они необходимы. Более того, в результате непрерывно протекающего обмена веществ в цитоплазме постоянно образуются конечные продукты метаболизма: углекислый газ, мочевина и другие азотистые соединения. Их накопление губительно для клетки- они должны быть выведены во внешнюю среду.

Значит, мембраны живых клеток не могут быть абсолютно непроницаемыми.

В их структуре должны существовать пути избирательного переноса различных по размеру и физико-химическим свойствам молекул.

Процессы избирательного переноса веществ, обеспечиваемые специализированными структурами в мембране, называют транспортом.

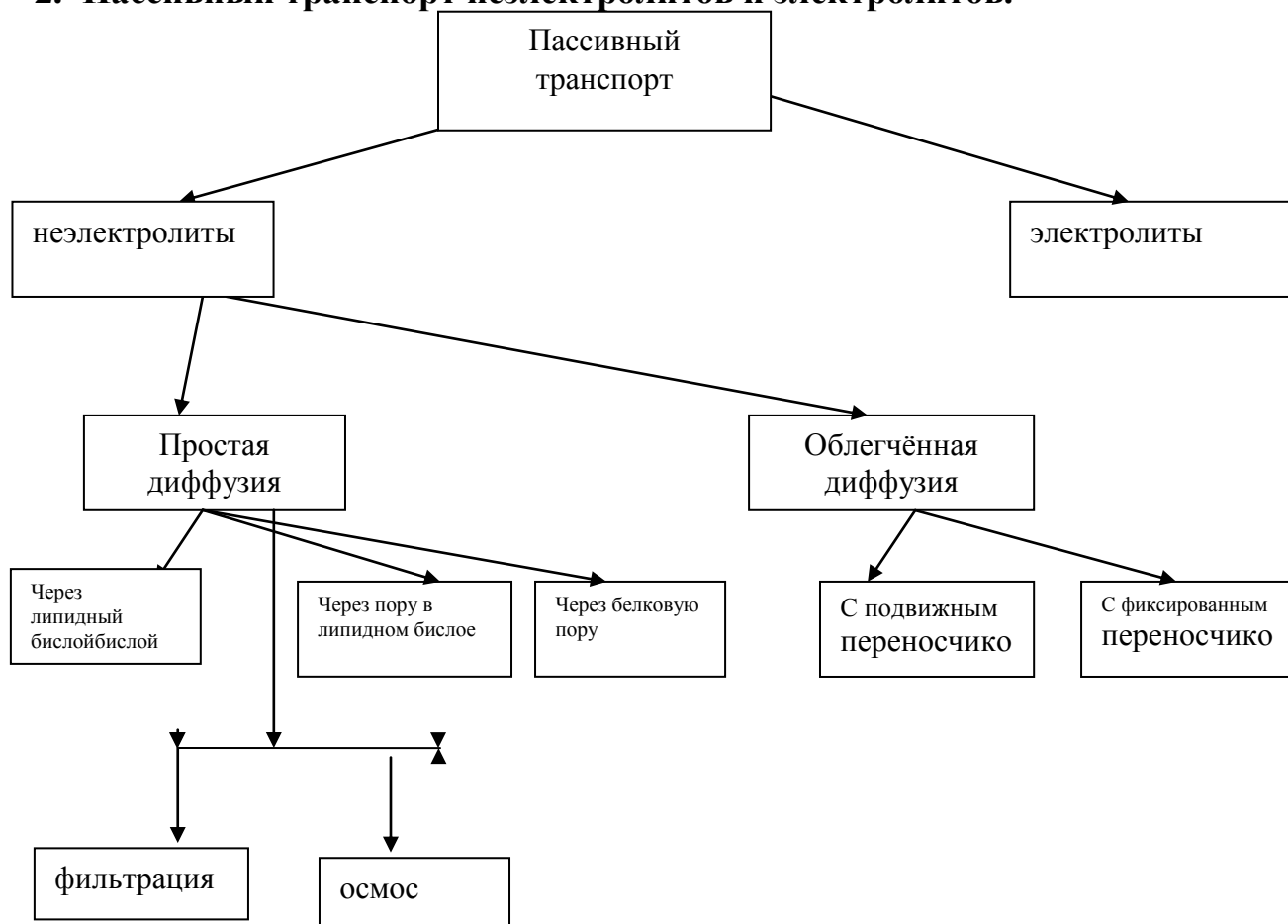
Транспорт веществ через биологические мембраны можно разделить на два основных типа: пассивный и активный.

Пассивный транспорт – это перенос вещества из мест с большим значением электрохимического потенциала к местам с его меньшим значением.

Пассивный потенциал идет с уменьшением энергии Гиббса, и поэтому этот процесс может идти самопроизвольно без затраты энергии

Активный транспорт – это перенос вещества из мест с меньшим значением электрохимического потенциала в места с его большим значением. Активный транспорт происходит при затрате химической энергии за счет гидролиза АТФ.

2. Пассивный транспорт неэлектролитов и электролитов.



Большое значение для описания транспорта веществ имеет понятие электрохимического потенциала.

Химическим потенциалом данного вещества μ_k называется величина, численно равная энергии Гиббса, приходящаяся на один моль этого вещества.

Математически химический потенциал определяется как частная производная от энергии Гиббса G по количеству k -го вещества, при постоянстве температуры T , давления P и количества всех других веществ $m_l (l \neq k)$:

$$\mu_k = \left(\frac{\partial G}{\partial m_k} \right)_{P, T, m_{l \neq k}}$$

где μ_0 - стандартный химический потенциал, численно равный химическому потенциалу данного вещества при его концентрации 1 моль/л в растворе.

Для разбавленного раствора концентрации вещества C :

$$\mu = \mu_0 + RT \ln C,$$

Электрохимический потенциал $\tilde{\mu}$ - величина, численно равный энергии Гиббса G на один моль данного вещества, помещенного в электрическом поле.

$$\tilde{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + ZF\varphi$$

где $F=96500$ Кл/моль число Фарадея, Z – заряд иона электролита, φ - потенциал электрического поля, T [K] – температура.

$$\tilde{\mu}_1 > \tilde{\mu}_2$$

Плотность потока вещества j_m при пассивном транспорте подчиняется уравнению Теорелла:

$$j_m = -UC \frac{d\tilde{\mu}}{dx},$$

где U – подвижность частиц, C – концентрация. Знак минус показывает, что перенос происходит в сторону убывания $\tilde{\mu}$.

Плотность потока вещества – это величина, численно равная количеству вещества, перенесенного за единицу времени через единицу площади поверхности, перпендикулярной направлению переноса:

$$j_m = \frac{m}{S \cdot t}$$

Подставив в уравнение Теорелла выражение для электрохимического потенциала для разбавленных растворов, получим для разбавленных растворов при $\mu_0 = const$ уравнение Нернста-Планка:

$$j_m = -URT \frac{dC}{dx} - UCZF \frac{d\varphi}{dx},$$

Итак, могут быть две причины переноса вещества при пассивном транспорте:

градиент концентрации $\frac{dC}{dx}$ и градиент электрического потенциала $\frac{d\varphi}{dx}$. Знаки минусов перед градиентами показывают, что градиент концентрации вызывает перенос вещества от мест с большей концентрацией к местам с его меньшей концентрацией; а градиент электрического потенциала вызывает перенос положительных зарядов от мест с большим к местам с меньшим потенциалом.

В отдельных случаях вследствие сопряжения этих двух причин может происходить пассивный перенос вещества от мест с меньшей концентрацией к местам с большей концентрацией, если второй член уравнения Нернста–Планка по модулю больше первого, и может происходить перенос вещества

от мест с меньшим потенциалом к местам с большим потенциалом, если первый член уравнения по модулю больше второго.

В соответствии с этими градиентами различают следующие виды пассивного транспорта через мембрану: простая диффузия, облегченная диффузия, осмос, фильтрация.

Диффузия – самопроизвольное перемещение вещества из мест с большей концентрацией в места с меньшей концентрацией вещества вследствие хаотического теплового движения молекул.

В случае неэлектролитов ($Z=0$) или отсутствия электрического поля ($\frac{d\varphi}{dx}=0$) уравнение Теорелла переходит в уравнение

$$j_m = -URT \frac{dC}{dx},$$

коэффициент диффузии обозначим $D = URT$, тогда получим уравнение Фика (уравнение диффузии) – описывающее простую диффузию

$$j_m = -D \frac{dC}{dx}$$

D -коэффициент диффузии численно равен количеству вещества, диффундирующего за единицу времени через единицу площади поверхности при градиенте концентрации, равном единице.

Коэффициент диффузии зависит от природы вещества и от температуры.

Уравнение Фика-устанавливает количественную связь между массой транспортируемого вещества, проницаемостью мембраны, ее площадью, градиентной силой и временем диффузии.

Градиент концентрации – это изменение концентрации вещества, приходящееся на единицу длины, в направлении диффузии.

Диффузия является основным видом пассивного транспорта веществ в клетках. Все остальные виды пассивного переноса относятся главным образом к транспорту воды. Вода играет важную роль в жизнедеятельности клеток. Проницаемость клеток для воды весьма велика, это связано с тем, что молекулы воды имеют небольшие размеры и легко проникают через поры мембран. Проникновение воды через мембрану в результате осмоса.

Простая диффузия-самый простой механизм переноса.

Этим путём клетка обменивается с наружной средой кислородом, углекислым газом и водой. Таким же способом в цитоплазму проникают и многие синтетические вещества, например лекарственные препараты. Особенно легко проходят плазматическую мембрану гидрофобные (т.е. легко растворяющиеся в неполярных органических жидкостях) молекулы. Скорость диффузии различных молекул через бислой определяется двумя факторами:

1. разницей концентраций переносимого вещества по обе стороны мембраны
2. способностью растворяться в составляющих бислой соединениях.

Простая диффузия подчиняется уравнению Фика.

$$dm = -D \cdot S \cdot \frac{dc}{dx} \cdot dt$$

dm – масса транспортируемого вещества

D – коэффициент диффузии мембраны для данного вещества

S – площадь диффузионной поверхности

dc – концентрация вещества

dx – диффузионный путь (толщина мембраны)

dt – время диффузии

Виды простой диффузии.

1. через липидный бислой:

- проходят хорошо растворимые неполярные вещества: органические жирные кислоты, эфиры, кислород, углекислый газ.
- Плохо проходят полярные водорастворимые вещества: соли, основания, сахара, аминокислоты, спирты.

2. через пору в липидном бислое и белковую пору

- проникают молекулы нерастворимых в липидах веществ и водорастворимые гидратированные ионы (окружённые молекулами воды). Для жиронерастворимых веществ и ионов мембрана выступает как молекулярное сито: чем больше размер молекулы, тем меньше проницаемость мембраны для этого вещества.

Виды облегчённой диффузии:

1. с подвижными переносчиками.

Облегчённая диффузия с подвижными переносчиками происходит при участии молекул переносчиков, например, валиномицин- переносчик ионов калия.

Валиномицин имеет форму манжетки (бублика) и способен образовывать комплекс с ионами калия, попадающими внутрь молекулы- манжетки.

Валиномицин растворим в липидной фазе мембран. Диффундируя в мембране, молекулы переносят калий через мембрану. Перенос ионов может происходить и в одну и в другую сторону. Поэтому, если концентрация калия по обе стороны мембраны одинакова, потоки калия будут одинаковы в обе стороны, и в результате переноса калия через мембрану не будет. Но если с одной стороны концентрация K^+ будет больше, чем с другой стороны, то здесь ионы будут чаще захватываться молекулами переносчика и поток K^+ будет происходить в сторону меньшей концентрации K^+ .

Облегчённая диффузия, таким образом, происходит от мест с большей концентрацией переносимого вещества к местам с меньшей концентрацией.

Отличия облегченной диффузии от простой:

1) перенос ионов с участием переносчика происходит значительно быстрее по сравнению со свободной диффузией;

2) облегченная диффузия обладает свойством насыщения - при увеличении концентрации с одной стороны мембраны плотность потока вещества возрастает лишь до некоторого предела, когда все молекулы переносчика уже заняты;

3) при облегченной диффузии наблюдается конкуренция переносимых веществ в тех случаях, когда одним переносчиком переносятся разные вещества; при этом одни вещества переносятся лучше, чем другие, и добавление одних веществ затрудняет транспорт других;

4) есть вещества, блокирующие облегченную диффузию, они образуют прочный комплекс с молекулами переносчика, препятствуя дальнейшему переносу.

Разновидностью облегченной диффузии является транспорт с помощью неподвижных молекул переносчиков, фиксированных определенным образом поперек мембраны. При этом молекула переносимого вещества передается от одной молекулы переносчика к другой по типу эстафеты.

2. с фиксированными переносчиками

- Эстафетная передача с помощью переносчиков.

Транспорт с помощью переносчиков используется и в варианте эстафетный передачи. В этом случае молекулы-переносчики образуют временную цепочку поперёк мембраны и передают друг другу диффундирующую молекулу.

Примером может служить антибиотик грамицидин А. Его молекулы не ходят, как челноки, с одной стороны мембраны на другую, встраиваются в мембрану друг за другом. Захватив ион щелочного металла, крайняя молекула грамицидина передаёт её следующей и так дальше, «по эстафете». В результате ион калия проходит через мембрану, перескакивая от одной молекулы грамицидина к другой. Такое представление о механизме действия грамицидина совпадает с тем, что известно о наличии в мембране специфических каналов. Только канал в данном случае образуется не компонентами мембраны, а антибиотиками.

- «симпорт» и «антипорт».

Транспорт некоторых веществ с участием переносчика зависит от присутствия других веществ, также переносимых через мембрану. Например, в эпителиальных клетках почки и кишечника транспорт сахаров и аминокислот через клеточную мембрану сопровождается переносом натрия в

том же направлении. Это явление получило название "«импорт»". Когда же транспорт одних веществ связан с переносом других в противоположном направлении, то такое явление принято обозначать словом «антипорт». Наиболее распространённый случай антипорта- сопряжённый перенос в противоположных направлениях ионов натрия и калия через плазматические мембраны различных клеток.

Осмоз – это движение молекул воды через полупроницаемую мембрану из области меньшей в область большей концентрации растворенного вещества. Осмос – это простая диффузия воды. Перемещение молекул воды продолжается до тех пор, пока концентрация воды по обе стороны мембраны не станет равной. Осмос играет большую роль во многих биологических явлениях. Явление осмоса обуславливает гемолиз эритроцитов в гипотонических растворах.

Фильтрация – это движение жидкости через поры в мембране под действием градиента давления. Скорость переноса при фильтрации подчиняется закону Пуазейля:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\pi r^4 (P_1 - P_2)}{8l\eta}$$

где r-радиус поры, l- длина поры, η- вязкость жидкости, (P₁-P₂)- разность давлений между началом и концом поры, V-объем фильтрованной жидкости. Явление фильтрации играет важную роль в процессах переноса воды через стенки кровеносных сосудов.

В классической теории клеточной проницаемости рассматривается переход вещества из окружающей среды в клетку и в обратном направлении этого вещества через клеточную оболочку – мембрану. На проницаемость клеточной мембраны влияют размеры молекул. Например, белковые молекулы не диффундируют через некоторые мембраны, легко пропускающие воду и растворенные в ней низкомолекулярные вещества.

Ионный канал

Перенос вещества происходит через ионные каналы.

Ионные каналы представляют собой трансмембранные белковые комплексы, предназначенные для переноса ионов с одной стороны мембрану на другую. Этот перенос носит пассивный характер и осуществляется по градиенту концентрации соответствующего иона. Ионные каналы экспрессируются во всех без исключения клетках организма (как электровозбудимых, так и электронеозбудимых тканей) и являются важными компонентами клеточных сигнальных систем. Часть каналов в мембранах клеток расположена не равномерно, а сконцентрирована в кластерах.

Данные о **молекулярной структуре ионных** каналов свидетельствуют о том, что они, как правило, представляют собой заполненную водой пору, выстланную изнутри полярными группами аминокислот, сама пора образована

либо α -спиральными, либо β -структурными элементами. Поток ионов по ионным каналам формирует электрический ток (10^{10} - 10^{12} А/канал). Когда канал открыт, через липидный бислой может проходить до 10^6 - 10^8 ионов в секунду, то есть открытие относительно малого числа каналов приводит к значительным и быстрым изменениям электрических свойств мембран. Открытие натриевых и кальциевых каналов плазматической мембраны приводит к поступлению этих ионов в клетку и деполяризации мембраны, в то время как открытие калиевых и хлорных каналов — к гиперполяризации мембраны (суммарный заряд цитоплазмы становится более отрицательным).

Основные свойства ионных каналов:

- 1) селективность;
- 2) независимость работы отдельных каналов;
- 3) дискретный характер проводимости;
- 4) зависимость параметров каналов от мембранного потенциала.

Рассмотрим их по порядку.

1. Селективностью называют способность ионных каналов избирательно пропускать ионы какого-либо одного типа.

Еще в первых опытах на аксоне кальмара было обнаружено, что ионы Na^+ и K^+ по-разному влияют на мембранный потенциал. Ионы K^+ меняют потенциал покоя, а ионы Na^+ — потенциал действия.

Измерения показали, что ионные каналы обладают абсолютной селективностью по отношению к катионам (катион-селективные каналы), либо к анионам (анион-селективные каналы). В то же время через катион-селективные каналы способны проходить различные катионы различных химических элементов, но проводимость мембраны для не основного иона, а значит и ток через нее, будет существенно ниже. Например, для K^+ -канала калиевый ток через него будет в 20 раз меньше, чем для Na^+ . Способность ионного канала пропускать различные ионы называется относительной селективностью и характеризуется рядом селективности — соотношением проводимостей канала для разных ионов, взятых при одной концентрации. При этом для основного иона селективность принимают за 1. Например, для Na^+ -канала этот ряд имеет вид:

$$\text{Na}^+ : \text{K}^+ = 1 : 0,05.$$

2. Независимость работы отдельных каналов

Прохождение тока через отдельный ионный канал не зависит от того, идет ли ток через другие каналы. Например, K^+ -каналы могут быть открыты или закрыты, но ток через Na^+ -каналы не меняется. Влияние каналов друг на друга происходит опосредованно: изменение проницаемостей каких-либо каналов (например натриевых) меняет мембранный потенциал, а уже он влияет на проводимости прочих ионных каналов.

3. Дискретный характер проводимости ионных каналов

Ионные каналы представляют собой субъединичный комплекс белков, пронизывающий мембрану. В центре его существует трубка, сквозь которую

могут проходить ионы. Количество ионных каналов на 1 мкм^2 поверхности мембраны определяли с помощью радиоактивно-меченного блокатора натриевых каналов — тетродотоксина.

Известно, что одна молекула ТТХ связывается только с одним каналом. Тогда измерение радиоактивности образца с известной площадью позволило показать, что на 1 мкм^2 аксона кальмара находится около 500 натриевых каналов.

Те трансмембранные токи, которые измеряют в обычных экспериментах, например на аксоне кальмара длиной 1 см и диаметром 1 мм, т. е. площадью $3 \cdot 10^7 \text{ мкм}^2$, обусловлены суммарным ответом (изменением проводимости) $500 \cdot 3 \cdot 10^7 \sim 10^{10}$ ионных каналов. Для такого ответа характерно плавное во времени изменение проводимости. Ответ одиночного ионного канала меняется во времени принципиально иным образом: дискретно и для Na^+ -каналов и для других ионных каналов.

Проводимость ионного канала дискретна и он может находиться в двух состояниях: открытом или закрытом. Переходы между состояниями происходят в случайные моменты времени и подчиняются статистическим закономерностям. Нельзя сказать, что данный ионный канал откроется именно в этот момент времени. Можно лишь сделать утверждение о вероятности открывания канала в определенном интервале времени — времени его жизни — T_{Na} .

Ионные каналы описывают характерными временами жизни. Так, время жизни канала грамицидина А около 1 с, кальциевого канала в кардиомиоците — 200 мс, а натриевого канала мембраны аксона кальмара — около 1 мс.

Несмотря на то, что ток через каждый ионный канал меняется скачком, зависимость суммарного трансмембранного тока во времени плавная. Этот феномен можно объяснить, используя методы статистической физики.

4. Зависимость параметров канала от мембранного потенциала

Ионные каналы нервных волокон чувствительны к мембранному потенциалу, например натриевый и калиевый каналы аксона кальмара. Это проявляется в том, что после начала деполяризации мембраны соответствующие токи начинают изменяться с той или иной кинетикой. На языке ионных каналов этот процесс происходит следующим образом. Ион-селективный канал имеет сенсор — некоторый элемент своей конструкции, чувствительный к действию электрического поля (рис.). При изменении мембранного потенциала меняется величина действующей на него силы, в результате эта часть ионного канала перемещается и меняет вероятность открывания или закрывания ворот — своеобразных заслонок, действующих по закону «все-или-ничего». Экспериментально показано, что под действием деполяризации мембраны увеличивается вероятность перехода натриевого канала в проводящее состояние. Скачок напряжения на мембране, создаваемый при измерениях методом фиксации потенциала, приводит к тому, что большое число каналов открывается. Через них проходит больше зарядов, а значит, в среднем, протекает больший ток. Существенно, что процесс

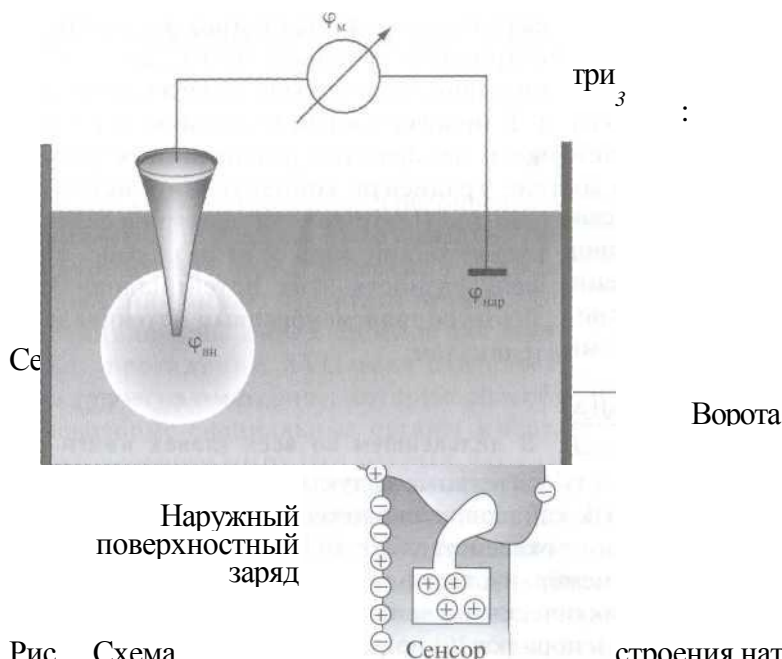


Рис. . Схема строения натриевого ионного канала мембраны

роста проводимости канала определяется увеличением вероятности перехода канала в открытое состояние, а не увеличением диаметра открытого канала. Таково представление о механизме прохождения тока через одиночный канал.

Ион-селективные катионные каналы обладают большим разнообразием в последовательностях их работы, временах открытых состояний и временах их жизни. Они могут открываться и закрываться существенно иным образом по сравнению с приведенными Na^+ — каналами.

Токи одиночных K^+ -каналов имеют амплитуду до 2 пА, а среднее время открытого состояния 5 мс. Однако за это время канал может несколько раз открыться и закрыться на короткое время, т. е. могут происходить осцилляции тока. В отличие от натриевых, K^+ -каналы не инактивируются пока потенциал выше порогового значения. Отдельные каналы во время деполяризации могут открываться по несколько раз.

Токи одиночных Ca^{2+} -каналов кардиомиоцитов имеют более сложный характер по сравнению с Na^+ — и K^+ -токами аксонов. Во время последовательных скачков деполяризации в 70 % случаев Ca^{2+} -каналы открываются на время - 1 мс; через каждые 0,2 мс он закрывается и вновь открывается и пропускает ток с амплитудой импульса 1 пА. Такой процесс активации Ca^{2+} -тока длится около 130—200 мс, а затем наступает инактивация Ca^{2+} -тока. В 30 % подачи деполяризующих потенциалов кальциевый канал остается закрытым.

Ионные каналы могут быть чувствительны и к другим физическим воздействиям: механическим деформациям, связыванию химических веществ и т.д. В этом случае они являются структурной основой, соответственно, механорецепторов, хеморецепторов и т.д.

Изучение ионных каналов в мембранах есть одна из важных задач современной биофизики.

Структура ионного канала

Ион-селективный канал состоит из следующих частей (рис.):

1. погруженной в бислой **белковой** части, имеющей субъединичное строение;
2. **селективного фильтра**, образованного отрицательно заряженными атомами кислорода, которые жестко расположены на определенном расстоянии друг от друга и пропускают ионы только определенного диаметра;
3. **воротной части**

Ворота ионного канала управляются мембранным потенциалом и могут находиться как в закрытом состоянии (штриховая линия), так и в открытом состоянии (сплошная линия). Нормальное положение ворот натриевого канала — закрытое. Под действием электрического поля увеличивается вероятность открытого состояния, ворота открываются и поток гидратированных ионов получает возможность проходить сквозь селективный фильтр.

Если ион подходит по диаметру, то он сбрасывает гидратную оболочку и проскакивает на другую сторону ионного канала. Если же ион слишком велик по диаметру, как например, тетраэтиламмоний, он не в состоянии пройти сквозь фильтр и не может попасть на другую сторону мембраны. Если же, напротив, ион слишком мал, то у него возникают сложности в селективном фильтре, на сей раз связанные с трудностью сброса гидратной оболочки иона.

Блокаторы ионных каналов либо не могут пройти сквозь него, застревая в фильтре, либо, если это большие молекулы как ТТХ, они стерически соответствуют какому-либо входу в канал. Так как блокаторы несут положительный заряд, их заряженная часть втягивается в канал к селективному фильтру как обычный катион, а макромолекула закупоривает его.

Таким образом, изменения электрических свойств возбудимых биомембран осуществляется с помощью ионных каналов. Это белковые макромолекулы, пронизывающие липидный бислой, которые могут находиться в нескольких дискретных состояниях. Свойства каналов, селективных для ионов K^+ , Na^+ и Ca^{2+} , могут по-разному зависеть от мембранного потенциала, что и определяет динамику потенциала действия в мембране, а также отличия таких потенциалов в мембранах разных клеток.

Все каналы независимо от их строения, назначения и выполняемых функций пропускают через себя только пассивные потоки ионов.

Виды каналов

1. Каналы, открывающиеся при изменении потенциала мембраны, относятся к группе **потенциал-зависимых ионных каналов**;
2. каналы, чье пропускание регулируется за счет связывания внутри- и внеклеточных лигандов, называются **лиганд-управляемыми ионными каналами**.

2. каналы, регулируемые физическими стимулами (повышением температуры, растяжением и т.д.)

Регулируемые ионные каналы, участвующие в передаче сигнала, в ответ на определенный внешний стимул быстро изменяют мембранную проницаемость для определенного иона, при этом происходит изменение трансмембранного потенциала. Существует несколько требований к работе такого рода каналов:

- 1) внешний сигнал должен вызывать быстрое переключение между открытым и закрытым состояниями канала;
- 2) новое равновесие или стационарное значение мембранного потенциала должно устанавливаться быстро.

Ионные каналы могут находиться в открытом и закрытом состоянии, а процесс перехода из одного состояния в другое обозначается как пропускание (gating). Помимо этого, потенциал-зависимые каналы могут быть в инактивированном состоянии, что подразумевает их неспособность в данный момент времени отвечать на регуляторные сигналы (отсутствие проводимости на фоне стойкой деполяризации).

Потенциал-зависимые натриевые каналы участвуют в генерации потенциала действия в различных клетках, в том числе в клетках скелетной мускулатуры, за счет осуществляемого ими транспорта ионов натрия внутрь клетки по электрическому и концентрационному градиенту. Благодаря этому мембрана клетки деполяризуется (изменение потенциала мембраны от -85 мВ до $+25$ мВ). Следующая за этим быстрая инактивация натриевых каналов сопровождается повышением мембранной проницаемости для ионов калия, которые, поступая в цитоплазму, возвращают потенциал мембраны к исходному уровню.

Мутации генов, кодирующих натриевые каналы, могут приводить к увеличению функциональной активности этих каналов, что сопровождается:

- 1) неполной или нестабильной инактивацией канала;
- 2) повторными эпизодами открытия канала;
- 3) патологически усиленным натриевым током;
- 4) стойкой мембранной деполяризацией.

Последняя вызывает вторичную потерю функциональной активности остальных натриевых каналов, экспрессируемых в данной клетке, даже при условии отсутствия дефектов белков этих каналов.

АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ ИОНОВ ЧЕРЕЗ КЛЕТОЧНУЮ МЕМБРАНУ. СХЕМА K-Na НАСОСА.

Перенос молекул и ионов против электрохимического градиента, осуществляемый клеткой за счёт энергии метаболических процессов, называется активным транспортом.

Одна из основных функций мембраны состоит в том, чтобы очень четко регулировать поступление различных веществ в клетку и их выход из нее в окружающую среду.

Одни вещества легко проходят через мембрану, для других она непроницаема.

Механизм, управляющий мембранными “воротами”, еще не разгадан окончательно, и эта проблема в настоящее время интересует не только биологов и химиков, но также и физиков.

АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ

Клеточные мембраны обладают не только пассивной проницаемостью, но действуя подобно насосу, способны перекачивать вещество против градиента концентрации, т.е. из более разбавленного раствора в менее разбавленный. Это явление получило название активного транспорта.

Активный транспорт – одно из необходимых условий жизни; при нарушении работы биологических насосов клетки погибают. Обычно концентрация белков и других макромолекул внутри клетки выше, чем в окружающей среде. В отличие от воды эти макромолекулы не проходят свободно через мембрану, поэтому вода по законам осмоса “врывается” в клетку и тем самым увеличивает внутреннее давление – клетка начинает набухать. Чтобы противостоять поступлению воды, клетки пускают в дело биологический насос, выкачивающий наружу ионы натрия. Когда они выкачиваются, внутренняя область клетки заряжается отрицательно по отношению к окружающей среде. В то же время насос накачивает ионы калия из наружного раствора во внутреннюю среду клетки. В результате концентрация ионов калия внутри клетки становится выше, чем в окружающей среде. По законам пассивного транспорта ионы натрия и калия стремятся уйти в обратном направлении, т.е. в то пространство, где их концентрация меньше: ионы калия – из клетки, ионы - натрия в клетку. Задача биологического насоса поддерживать внутри клетки постоянный ионный состав, несмотря на утечку. Если при этом скорость выхода ионов натрия оказывается выше скорости поступления ионов калия, то на мембране возникает разность потенциалов. Абсолютное значение разности потенциалов очень мало – 0,1 В. однако из-за малой толщины мембраны возникающее электрическое поле имеет напряженность 100000 В/см. именно такая разность потенциалов необходима для передачи импульсов по нервным волокнам для сокращения мышц и других физиологических процессов. Об эффективности натриевого насоса дают представление следующие числа: через 1 см² мембраны нерва кальмара прокачивается 10 млрд ионов Na в секунду. На эту операцию затрачивается не менее 20% всей энергии, производимой клеткой, но используется эта энергия экономно. Считают, что К.П.Д. превышает 50%, некоторые называют цифру 95%. Источник энергии для работы калий-натриевого насоса-АТФ. В АТФ накапливается энергия, освобождающаяся при утилизации пищи и дыхания, поэтому можно сказать, что питаясь, мы питаем и натриевый насос. Осуществляя перенос веществ против градиента, клетка совершает определённую работу, которая называется концентрационной или

осмотической. Величина концентрационной работы при переносе незаряженных частиц против сил диффузии может быть найдена из уравнения:

$$A = \mu RT \cdot \ln \frac{C_1}{C_2} \quad \text{где}$$

A- работа,

μ - количество молей вещества, перенесённого через мембрану из области с активной концентрацией C_2 в область с концентрацией C_1 .

R-газовая постоянная

T-абсолютная температура.

Если происходит перенос через электрически поляризованную мембрану, то работа совершается не только против сил диффузии, но и против сил электрического поля мембраны. В этом случае общая работа может быть найдена из уравнения:

$$A = \mu RT \cdot \ln \frac{C_1}{C_2} \pm F \cdot m \cdot n (E_1 - E_2)$$

n-валентность ионов

F-число Фарадея

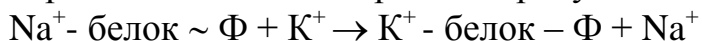
$(E_1 - E_2)$ - разность потенциалов между поверхностями мембраны.

Для описания транспорта ионов против градиентов необходимо поступление энергии АТФ, реализация которой происходит при действии фермента аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы). Как было установлено экспериментально, весь процесс переноса ионов протекает в три стадии: киназную, ионообменную и фосфотазную.

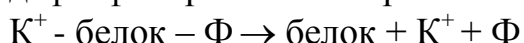
Первая стадия активизируется ионами натрия. В этой стадии происходит фосфолирование белка- переносчика и присоединение к нему ионов натрия:
 $\text{АТФ} + \text{белок} + \text{Na}^+ \rightarrow \text{Na}^+ \text{- белок} \sim \Phi + \text{АДФ}$

Эта стадия заканчивается переносом ионов натрия на внешнюю поверхность мембраны.

Вторая стадия, протекающая на внешней поверхности мембраны и активируемая ионами калия, заключается в обмене натрия на ионы калия и в переносе последних через мембрану.



Цикл заканчивается на внутренней поверхности мембраны дефосфолированием переносчика и освобождением ионов калия.



Существуют данные, что натрий- калиевый насос может работать в нескольких режимах. Он может переносить ионы калия и натрия 1:1 , 1:2 , 1:3.

В настоящее время большинство исследователей склоняется к мысли, что насос действует по принципу открывающихся и закрывающихся каналов.

Предполагают, что натриевые и калиевые каналы соседствуют друг с другом.

Связывание молекулы канального белка с ионами Na^+ приводит к нарушению системы водородных связей, в результате чего меняется его

форма. Обычная α -спираль, в которой на каждый виток приходится 3,6 аминокислотных остатка, переходит в более рыхлую π -спираль (4,4 аминокислотных остатка на виток).

В результате образуется внутренняя полость, достаточная для прохождения иона Na^+ , но слишком узкая для ионов калия.

После прохождения Na^+ π -спираль переходит в совсем тугую свёрнутую спираль 3_{10} (три аминокислотных остатка на виток и водородная связь у каждого десятого атома).

При этом натриевый канал закрывается, а стенки соседнего- калиевого канала- раздвигаются, образуя полость, достаточно широкую для прохождения иона калия.

Образно говоря, этот Na-K насос действует по принципу широко распространённого в биологических и химических лабораториях перестальтического насоса, работа которого основана на переменном сжатии и расширении эластичных труб.

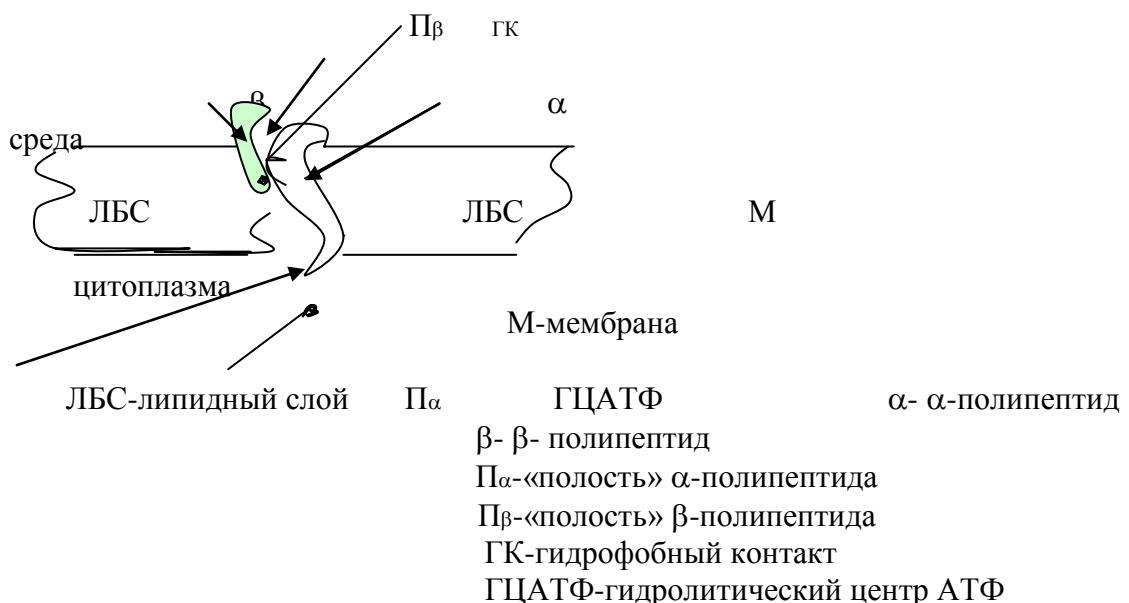
В настоящее время интенсивно изучается также другой ионный насос- способный накачивать ионы кальция. Наиболее хорошо изучен кальциевый насос мышечной ткани (саркоплазматической сети). Кальциевые насосы имеются также в мембране эритроцитов.

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ мембранный насос

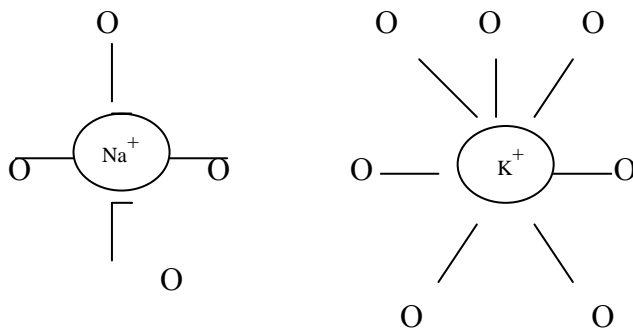
Клеточный (мембранный) насос – интегральный белок, который осуществляет избирательный антиградиентный транспорт ионов через мембрану.

Насос обеспечивает постоянство ионного состава клетки, «нормальное» неравномерное распределение ионов относительно клеточной мембраны.

Натриево-калиевый насос в присутствии Mg^{2+} и Na^+ способен расщеплять молекулу АТФ.



1. Дегидратация ионов Na^+ , K^+
2. Присоединение K^+ к полости β - полипептида
3. Присоединение АТФ к гидролитическому центру
4. Гидролиз АТФ на АДФ и Р в присутствии Mg^{2+} , Na^+
5. Присоединение аниона фосфата (Р) к стенкам полости α -полипептида (фосфолирование белка)
6. Притяжение Na к отрицательной полости α -полипептида
7. Образование первой, затем 2 и 3 Na^+ специфической ячейки
8. Смещение за счет тепловых флуктуаций α - и β -полипептидов относительно друг друга. Образование ионообменной полости
9. Перенос Na^+ с α -полипептида на β - полипептид, а K^+ - наоборот (процесс ионного обмена)
10. Конформационное изменение α - и β -полипептидов. «Выброс» Na^+ в межклеточную среду, K^+ – в цитоплазму
11. Дефосфорилизация белка. Завершение цикла транспорта 3 Na^+ и 2 K^+



Na^+ , K^+ -центральные ионы O- леганды кислорода
 Na^+ , K^+ -специфические ячейки это аналог комплексного химического соединения.

Обмен Na^+ и K^+ в ионообменной полости является этапом активного транспорта. Ионообмен осуществляется за счет энергии, которая выделяется при гидролизе АТФ.

Липидные поры: стабильность и проницаемость мембран

Бимолекулярный слой фосфолипидов составляет основу любой клеточной мембраны. Непрерывность его определяет барьерные и механические свойства клетки. В процессе жизнедеятельности непрерывность бислоя может нарушаться с образованием структурных дефектов типа сквозных гидрофильных пор. Вполне естественно ожидать при этом изменения всех функций клеточной мембраны, включая проницаемость и стабильность.

Фосфолипиды, составляющие основу клеточных мембран, относятся к жидким кристаллам. Как в любом реальном кристалле, в пленке из фосфолипидов могут быть дефекты, в месте которых и развиваются основные события структурных перестроек. Виды дефектов многообразны,

но и наиболее естественным для бислоя является дефект типа сквозной гидрофильной поры.

Механическая прочность живой клетки наряду с липидным бислоем обеспечивается системой белковых микротрубочек и сетью мембранных белков. Однако это не умаляет роли самих липидных пор и связанного с ними механизма дестабилизации мембран, особенно в тех случаях, когда система микротрубочек отсутствует или не развита.

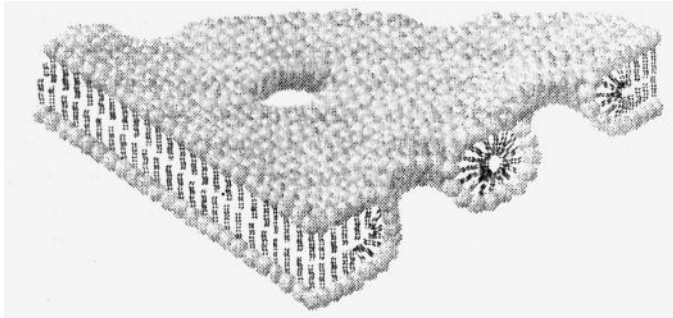


Рис. Бислойная липидная мембрана с липидными порами

В липидной бимолекулярной пленке клеточной мембраны поры появляются, если исключить чисто механические повреждения, в результате тепловых флуктуации поверхности бислоя, электрического пробоя, замораживания пленки, действия поверхностно-активных веществ, осмотического давления, перекисного окисления липидов и др. Один из наиболее типичных и хорошо изученных примеров дестабилизации биологических мембран — гемолиз эритроцитов. Это явление включает на начальном этапе набухание клеток в гипотонической среде в результате действия сил осмотического давления. Во время набухания клетки мембрана растягивается, что обуславливает рост мембранного натяжения. При определенном пороговом уровне натяжения появляются гидрофильные липидные поры. Размеры пор достаточны для выхода молекул гемоглобина и низкомолекулярных веществ. Выход веществ сопровождается в свою очередь снижением разности осмотического давления, при этом натяжение мембраны уменьшается и поры заживают. В противном случае неограниченный рост поры приводит к разрушению мембраны.

1. Мембранный потенциал

Одна из важнейших функций биологической мембраны - генерация и передача биопотенциалов. Это явление лежит в основе мышечного сокращения, возбудимости клеток, регуляции внутриклеточных процессов, работы нервной системы, всех видов рецепции. В медицине на исследовании электрических полей, созданных органами и тканями, основаны многие диагностические методы: электрокардиография, электроэнцефалография, электромиография и др. Разработаны методы

терапевтического воздействия на ткани и органы внешними электрическими импульсами при физиотерапии и электростимуляции.

Многие биологические структуры и прежде всего клетки являются замкнутыми системами. Внутри клеток находится раствор электролита — цитоплазма. Снаружи находится также раствор электролита — внеклеточная жидкость. Химический состав этих электролитов различен, но их удельные сопротивления всегда на много порядков меньше разделяющей их биологической мембраны. В процессе жизнедеятельности в клетках и тканях могут возникать мембранные разности электрических потенциалов вследствие градиента концентрации ионов и переноса ионов через мембрану. Поэтому если электрические потенциалы цитоплазмы и внеклеточной жидкости различны, то именно к мембране приложена разность этих потенциалов. Эта разность потенциалов называется **трансмембранным потенциалом** или просто **мембранным потенциалом**:

$$\Delta\varphi = \varphi_{\text{вн}} - \varphi_{\text{нар}}$$

Мембранные потенциалы подразделяются на **потенциалы покоя** и **потенциалы действия**. Потенциал покоя присущ как невозбудимым клеткам (например, эритроциту), так и возбудимым (аксоны, кардиомиоциты). Потенциалы действия существуют только в возбудимых клетках и тканях.

2. Способы измерения мембранного потенциала

Потенциал покоя — стационарная разность электрических потенциалов, регистрируемая между внутренней и наружной поверхностями мембраны в невозбужденном состоянии.

Экспериментальное изучение характеристик и природы биопотенциалов связано с рядом трудностей. Большой проблемой при исследовании биопотенциалов стал выбор биологического объекта. Аксоны позвоночных животных и человека в диаметре очень малы и не позволяют доступными методами измерять их внутренние потенциалы. Диаметр аксона кальмара достигает 0,5 мм, что в 100—1000 больше, чем диаметр аксонов позвоночных, в том числе аксона человека. Поэтому в дальнейшем аксоны этих моллюсков стали называть «гигантскими аксонами кальмара».

В биофизике гигантский аксон кальмара является одним из основных модельных объектов для изучения биопотенциалов.

В гигантский аксон кальмара можно ввести, так называемый, микроэлектрод, не нанеся аксону значительных повреждений. Микроэлектрод представляет собой стеклянную микропипетку с оттянутым очень тонким кончиком — диаметром 0,5 мкм (рис)

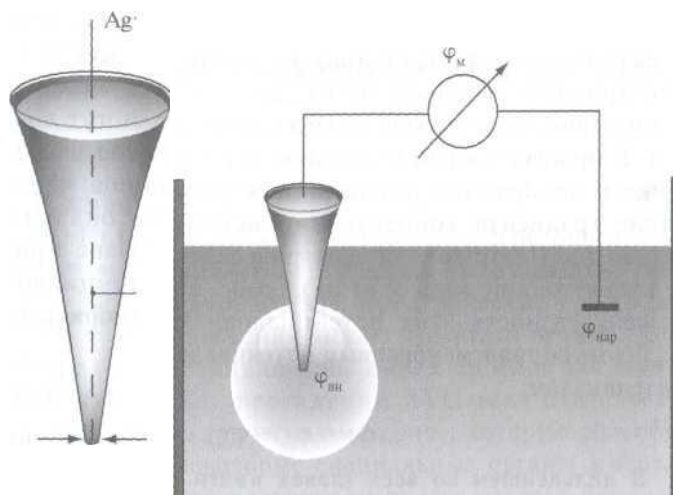


Рис. 1 Метод измерения биопотенциалов: а — стеклянный микроэлектрод; б — схема регистрации мембранного потенциала.

Стеклянная микропипетка заполнена раствором электролита, например KCl или $NaCl$ (желатинизированный агар-агаром), в который помещена серебряная проволока, покрытая солью $AgCl$. Такое покрытие позволяет исключить нежелательную поляризацию внутреннего электрода. Металлические электроды такой толщины пластичны и не могут проколоть клеточную мембрану. Кроме того, простой металлический электрод будет контактировать и с цитоплазмой, и с внешним раствором, что не позволит измерить разность потенциалов. Второй электрод - электрод сравнения - располагается в растворе внеклеточной жидкости (рис. 1б). Регистрирующее устройство, содержащее усилитель постоянного тока, измеряет мембранный потенциал. Микроэлектродный метод дал возможность измерить биопотенциалы не только на гигантском аксоне кальмара, но и на некоторых других клетках.

3. Условия возникновения мембранного потенциала. Уравнение Нернста

Потенциал покоя — стационарная разность электрических потенциалов, регистрируемая между внутренней и наружной поверхностями мембраны в невозбужденном состоянии.

Клетка находится в состоянии покоя, если электрохимические потенциалы внутри ее и снаружи одинаковы: $\mu_{вн} = \mu_{нар}$, а следовательно, сумма ионных потоков через мембрану в соответствии с уравнением Теорелла равна нулю.

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, то возможен процесс, при котором возникает поток заряженных частиц через мембрану. Вследствие этого может быть нарушена

электрическая нейтральность системы, и тогда внутри и снаружи клетки образуется разность потенциалов, которая будет препятствовать дальнейшему перемещению ионов. При установлении равновесия выравниваются значения электрохимических потенциалов по разные стороны мембраны: $RT \ln C_{\text{вн}} + ZF \varphi_{\text{вн}} = RT \ln C_{\text{нар}} + Z\varphi_{\text{нар}}$

Отсюда можно получить формулу для равновесного мембранного потенциала:

$$\varphi_i = \varphi_i - \varphi_e = -\frac{RT}{ZF} \cdot \ln \frac{C_i}{\tilde{N}_e}$$

Эта формула называется формулой Нернста.

Если мембранный потенциал обусловлен переносом ионов K^+ , для которого $[K^+]_i > [K^+]_e$ и $Z = +1$, равновесный мембранный потенциал меньше 0, т. е. — отрицательный: $\varphi_e = -\frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[K^+]_i}{[K^+]_e} < 0$

Для ионов Na^+ : $[Na^+]_i < [Na^+]_e$, $Z = +1$, равновесный мембранный потенциал больше 0, т. е. положительный: $\varphi_{Na} = -\frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[Na^+]_i}{[Na^+]_e} < 0$

Для ионов Cl^- : $[Cl^-]_i < [Cl^-]_e$, $Z = -1$ и $\varphi_{Cl} = -\frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[Cl^-]_i}{[Cl^-]_e} < 0$

Изначально концентрации основных ионов в клетке и снаружи, существенно различны. Для аксона кальмара и мышцы лягушки эти концентрации приведены в табл. 1.

Таблица 1. Концентрации ионов K^+ , Na^+ , Cl^- , равновесные потенциалы и потенциалы покоя некоторых клеток

Объект	Концентрация, ммоль/л						Φ_m , мВ по формуле			Φ_{vvg} , 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

Согласно современным представлениям причина возникновения мембранного потенциала покоя — диффузия ионов калия из клетки наружу.

Примем в формуле Нернста $C_i/C_e = 100$.

$\lg C_i/C_e = \lg 100 = 2$, и равновесный мембранный потенциал покоя $\Phi_{\text{мп}}$:

$$|\Phi_{\text{мп}}| = 0,06 \cdot 2 = 0,12 \text{ В} = 120 \text{ мВ},$$

что несколько больше экспериментально измеренных значений потенциала покоя.

В табл. 1 приведены значения мембранного потенциала, рассчитанного по формуле Нернста для различных клеток и для различных ионов, и экспериментально полученные значения потенциала покоя для этих клеток.

Из сравнения рассчитанных по формулам и экспериментальных значений мембранного потенциала видно, что потенциал покоя ближе к потенциалу, рассчитанному по формуле Нернста для ионов K^+ .

Вместе с тем существует некоторое расхождение экспериментальных и теоретических значений мембранного потенциала. Причины расхождения в том, что не учтены проницаемости мембраны для различных ионов.

4. Уравнение Гольдмана-Ходжкина

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

$$\varphi_i = -\frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{P_k [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_e}{P_k [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e + P_{Cl} [Cl^-]_i}$$

где P_j — коэффициент проницаемости мембраны для данного иона.

В числителе выражения, стоящего под знаком логарифма, представлены концентрации $[K^+]_i$, $[Na^+]_i$, но $[Cl^-]_e$, а в знаменателе — $[K^+]_e$, $[Na^+]_e$, но $[Cl^-]_i$, так как ионы хлора отрицательно заряжены.

Для аксона кальмара относительные коэффициенты проницаемости для клетки, находящейся в состоянии покоя:

$$P_k : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0.04 : 0.45$$

В случае, когда проницаемость мембраны для ионов натрия и хлора значительно меньше проницаемости для калия: $P_k \gg P_{Na}$, $P_k \gg P_{Cl}$ из уравнения Гольдмана получим уравнение Нернста для мембранного

потенциала покоя:
$$\varphi_e = -\frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{[K^+]_i}{[K^+]_e}$$

Мембранный потенциал, рассчитанный по уравнению Гольдмана, оказался по абсолютной величине ближе к экспериментальным его значениям в крупных клетках, чем потенциал, рассчитанный по уравнению Нернста.

Концентрация ионов K^+ внутри клетки всегда значительно больше, чем снаружи. Ионы Na^+ располагаются в основном снаружи клетки, а внутри их концентрация мала (см. табл. 1).

В соответствии с $\text{grad } C$ ионы K^+ будут вытекать из клетки, образуя поток калия J_K . При этом потенциал $\varphi_{вн}$ будет понижаться, стремясь к равновесному значению мембранного потенциала для ионов калия (для

аксона кальмара до—60 мВ). Этот процесс вызывает одновременное возрастание внешнего электрического поля, вектор напряженности которого направлен внутрь клетки. Это возрастающее электрическое поле является причиной уменьшения потока J_K , вытекающего из клетки. Когда ϕ_m достигнет своего равновесного значения $\phi_{мп}$ поток калия J_K станет равным 0. В соответствии с уравнением Теорелла, $J_m = 0$ в этом случае клетка приходит в состояние покоя.

В приведенной схеме не рассматриваются потоки ионов Na^+ , поскольку в покое относительная проницаемость мембран для этого иона составляет лишь 0,04 от проницаемости мембраны для K^+ .

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 клетках. В цитоплазматической мембране работают K^+Na^+ -АТФазы, перекачивающие калий внутрь клетки, а натрий — из клетки.

Повреждение клеточной мембраны приводит к повышению проницаемости клеточных мембран для всех ионов: к повышению и P_K , и P_{Na} , и P_{Cl} . Вследствие уменьшения различия проницаемостей абсолютное значение мембранного потенциала снижается.

Для сильно поврежденных клеток $\phi_{мп}$ еще меньше, но сохраняется отрицательный мембранный потенциал за счет содержащихся в клетке полианионов - отрицательно заряженных белков, нуклеиновых кислот и других крупных молекул, не проникающих через мембрану (доннановский потенциал).

Мембранный потенциал - электрическая разность потенциалов на мембране живой клетки в состоянии физиологического покоя. Величина МП=-60-90 мВ. «Наружная» поверхность клетки несет положительный заряд, цитоплазма - отрицательный.

Потенциал действия

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

Все клетки возбудимых тканей при действии различных раздражителей достаточной силы способны переходить в состояние возбуждения. К возбудимым относятся нервная, мышечная и железистая ткани. **Возбудимость** — это способность клеток к быстрому ответу на раздражение, проявляющемуся через совокупность физических, физико-

химических процессов и функциональных изменений. Обязательным признаком возбуждения является изменение электрического состояния клеточной мембраны. Опыт показывает, что возбужденный участок клетки становится электроотрицательным по отношению к невозбужденному, что указывает на перераспределение ионов в возбужденном участке. При возбуждении оно имеет временный характер, и после окончания возбуждения вновь восстанавливается исходный потенциал покоя. Общее изменение разности потенциалов между клеткой и средой, происходящее при пороговом и сверхпороговом возбуждении клеток, называется **потенциалом действия**. Потенциалы действия обеспечивают проведение возбуждения по нервным волокнам и инициируют процессы сокращения мышечных и секреции железистых клеток.

Современная теория возникновения потенциала действия базируется на данных, полученных методами внутриклеточного отведения потенциалов, фиксации напряжения на мембране, радиоактивных изотопов, перфузии нервных волокон, электропроводности и др.

Потенциал действия приблизительно на 98% формируется за счет потоков Na^+ , K^+ , Cl^- .

ПД имеет три фазы:

1. фаза -деполяризация
2. фаза -реполяризация
3. фаза -сверхполяризация

Еще в 1938 г. Коул и Кертис показали, что возбуждение связано с кратковременным увеличением электропроводности клеточной мембраны. Согласно их данным, сопротивление мембраны аксона кальмара изменяется от 1000 Ом/см^2 в состоянии покоя до 25 Ом/см^2 в момент возбуждения, а клетки водоросли *Nitella* от $100\,000$ до 500 Ом/см^2 . При этом сопротивление цитоплазмы клеток практически не изменялось. Уменьшение электрического сопротивления мембраны при возбуждении может быть объяснено только увеличением ее проницаемости для ионов, поскольку последние являются переносчиками электричества в тканях.

Было показано, что возникновение потенциала действия связано с увеличением проницаемости мембраны для ионов натрия и последующим усилением диффузии этих ионов по концентрационному градиенту внутрь клетки, что приводит к изменению (уменьшению) мембранного потенциала. При этом обнаружилось, что если мембранный потенциал уменьшается до некоторой критической величины (на $10\text{—}30 \text{ мВ}$), то, независимо от того, чем вызвано это уменьшение — наложением внешнего электрического поля или же действием другого раздражителя, между проницаемостью мембраны для натрия и уменьшением ее мембранного потенциала (деполяризацией) возникает регенеративная или положительная обратная связь. Уменьшение мембранного потенциала ниже критического уровня приводит к увеличению проницаемости мембраны для натрия, а увеличение проницаемости сопровождается усилением диффузии натрия в

цитоплазму, что вызывает еще более значительную деполяризацию мембраны). Благодаря наличию положительной обратной связи деполяризация мембраны при возбуждении происходит с ускорением и поток ионов натрия в клетку все время возрастает. Интенсивность же потока ионов калия, направленного из клетки наружу, в первые моменты возбуждения остается прежней. Усиленный поток положительно заряженных ионов натрия внутрь клетки вызывает вначале исчезновение избыточного отрицательного заряда на внутренней поверхности мембраны, а затем приводит к перезарядке мембраны. Поступление ионов натрия в клетку (продолжается до тех пор, пока внутренняя поверхность мембраны не приобретет положительный заряд, достаточный для уравнивания градиента концентрации натрия и прекращения его дальнейшего перехода внутрь клетки. Описанные процессы изменения проницаемости мембраны для ионов характерны для первой фазы потенциала действия — фазы деполяризации.

Если в состоянии покоя соотношение коэффициентов проницаемости мембраны 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.

Благодаря этому амплитуда потенциала действия достигает 90—130 мВ и, естественно, превышает величину потенциала покоя.

Потенциалы действия возникают в результате избыточной по сравнению с покоем диффузии ионов натрия из окружающей жидкости внутрь клетки.

Период, в течение которого проницаемость мембраны для ионов натрия при возбуждении клетки возрастает, является небольшим (0,5—1 мс); вслед за этим наблюдается повышение проницаемости мембраны для ионов калия и, следовательно, усиление диффузии этих ионов из клетки наружу. Увеличение ионного потока калия, направленного из клетки наружу, приводит к уменьшению мембранного потенциала, что в свою очередь обуславливает уменьшение проницаемости мембраны для ионов натрия.

Таким образом, второй этап возбуждения характеризуется тем, что поток ионов калия из клетки наружу возрастает, а встречный поток ионов натрия уменьшается. Это продолжается до тех пор, пока не произойдет восстановления потенциала покоя — **реполяризация** мембраны. После этого проницаемость для ионов калия также падает до исходной величины. Наружная поверхность мембраны за счет вышедших в среду положительно заряженных ионов калия опять приобретает положительный потенциал по отношению к внутренней. Эта фаза, в течение которой мембранный потенциал возвращается до уровня потенциала покоя, называется фазой **реполяризации**. Она всегда продолжительнее фазы

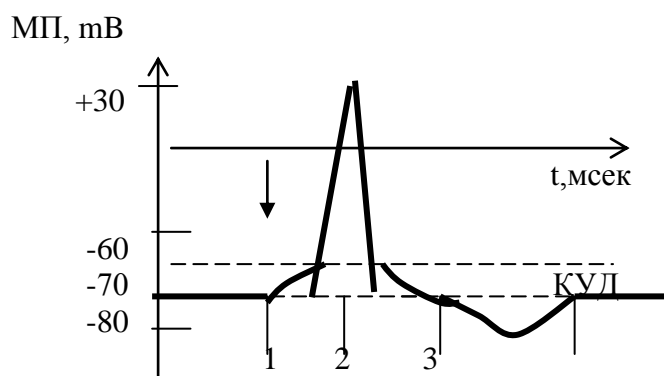
деполяризации и на кривой потенциала действия представлена в виде более пологой нисходящей ветви. Таким образом, реполяризация мембраны происходит вследствие выхода из клетки эквивалентного количества ионов калия.

3. фаза.

Положительный следовой потенциал выражается в гиперполяризации (увеличении потенциала покоя) мембраны и обусловлен тем, что проницаемость мембраны для калия в восстановительный период некоторое время остается повышенной.

Гиперполяризация-процесс, при котором степень отрицательности цитоплазмы обратимо увеличивается. Гиперполяризация обусловлена поступлением Cl^- в клетку.

Таким образом, **формирование потенциала действия обусловлено двумя ионными потоками через мембрану: поток ионов натрия внутрь клетки приводит к перезарядке мембраны, а противоположно направленный поток ионов калия обуславливает восстановление исходного потенциала покоя.** Потоки приблизительно равны по величине, но сдвинуты во времени. Благодаря этому сдвигу во времени и возможно появление потенциала действия. Если бы потоки натрия и калия через мембрану совпадали во времени, то они бы компенсировали друг друга и никакого изменения мембранного потенциала не могло бы происходить. В конечном итоге диффузия натрия и калия по градиентам должна бы приводить к выравниванию концентраций этих ионов между наружным раствором и цитоплазмой. В действительности этого не наблюдается. В периоды покоя концентрационные градиенты калия и натрия восстанавливаются в результате работы натрий-калиевого насоса, обеспечивающего перенос этих ионов против градиентов.



Характерные свойства потенциала действия:

- 1) наличие порогового значения деполаризующего потенциала;
- 2) закон "все или ничего", то есть, если деполаризующий потенциал

больше порогового, развивается потенциал действия, амплитуда которого не зависит от амплитуды возбуждающего импульса и нет потенциала действия, если амплитуда деполяризирующего 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 мембраны (у аксона кальмара от $0,4 \text{ Ом} \cdot \text{м}^2$ - в покое до $0,0025 \text{ Ом} \cdot \text{м}^2$ - при возбуждении).

Литература:

1. Л.Д. Бергельсон «Мембраны, молекулы, клетки»
2. В.К. Лيشко «Мембраны и жизнь клетки»
3. Б.И. Губанов «Медицинская биофизика».
4. А.Н. Ремизов «Медицинская и биологическая физика»
5. В.Ф. Антонов «Биофизика»

ПОТЕНЦИАЛ ДЕЙСТВИЯ

Потенциалы действия (нервные импульсы) могут возникать только в возбудимых клетках. К ним относятся клетки нервной системы, клетки скелетной мускулатуры, кардиомиоциты и ряд других. Посредством потенциалов действия в живом организме передается информация от рецепторов к нейронам мозга и от нейронов мозга к мышцам.

В XIX веке утвердилось представление о распространении электрических токов по нервам, как по проводам. Однако Гельмгольцем 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. Позже было показано, что медленное распространение электрического нервного импульса связано с перезарядкой конденсаторов (клеточные мембраны) через большие сопротивления R . Постоянная времени перезарядки мембраны ($\tau = RC$) велика, так как велики емкость мембраны C и сопротивление R нервного волокна.

То, что нервный импульс представляет собой импульс электрического тока, доказано лишь к середине 20-го века в основном в работах английского физиолога А.Ходжкина. В 1963 г. А. Ходжкину (A. Hodgkin), А. Хаксли (A.F. Huxley) и Дж. Эклсу (J. Eccles) была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине «За открытия, касающиеся ионных механизмов возбуждения и торможения в периферических и центральных участках мембраны нервных клеток».

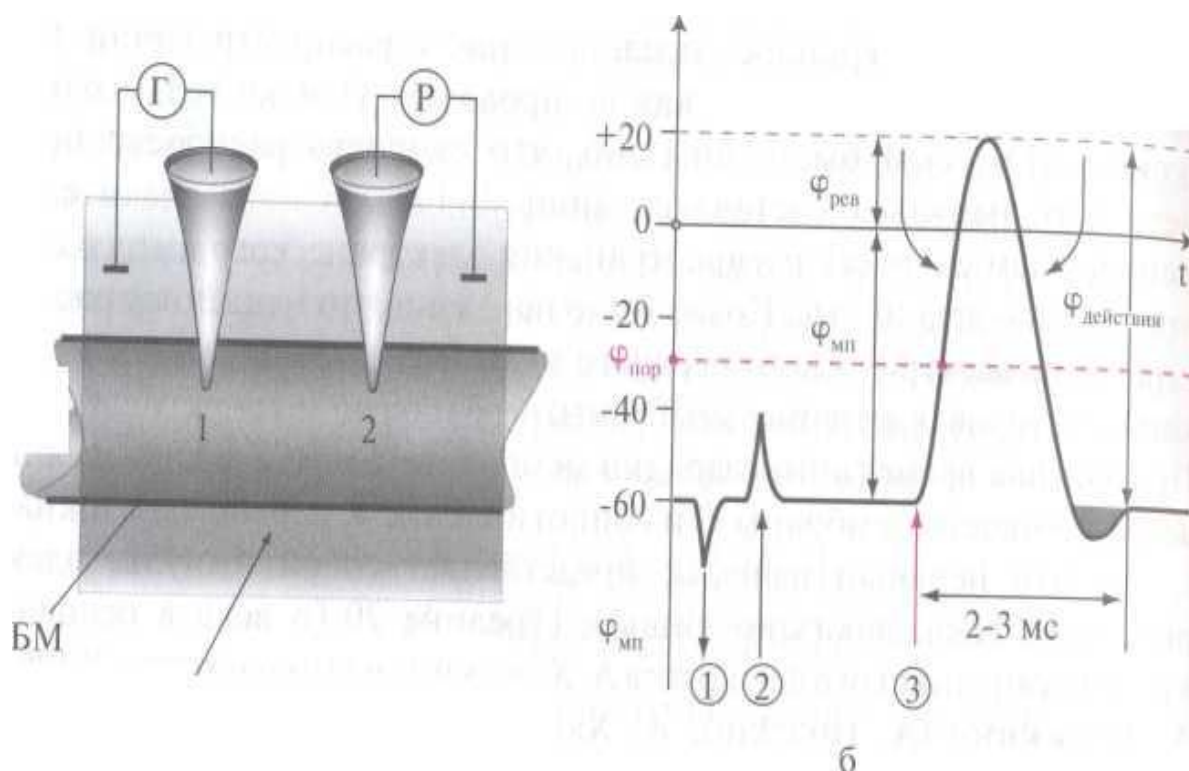
Потенциалом действия (ПД) называется электрический импульс, возникающий между внутренней и наружной сторонами мембраны и обусловленный изменением ионной проницаемости мембраны.

В отличие от потенциала покоя во время развития ПД через мембрану и наружу, и внутрь её идут ионные потоки, сумма которых не равна нулю.

ПД - это кратковременное изменение трансмембранного потенциала, которое длится 1—3 мс в аксоне и 200-400 мс в кардиомиоците.

Опыты по исследованию потенциала действия проведены на гигантских аксона кальмара методом микроэлектродов с использованием операционных измерителей напряжения, а также методом меченых атомов. На рис. 1 показаны схема опытов и результаты исследований.

В опытах по исследованию потенциала действия использовали два микроэлектрода, введенных в аксон. На микроэлектрод 1 подавался импульс от генератора Г прямоугольных импульсов, меняющий мембранный потенциал. Мембранный потенциал измерялся при помощи микроэлектрода 2 высокоомным регистратором напряжения Р.



а Внеклеточная жидкость

Рис1

Потенциал действия: а — схема опыта (БМ — биологическая мембрана, Г — генератор импульсов, Р — регистратор напряжения); б — график потенциала действия

Если импульс возбуждения от генератора вызывает малое смещение мембранного потенциала, то через короткое время на мембране восстанавливается потенциал покоя. В том случае, когда возбуждающий импульс смещает трансмембранный потенциал в отрицательную сторону (стрелка 1), то он вызывает гиперполяризацию мембраны. Не формируется также потенциал действия, когда возбуждающий импульс положительный (деполяризующий), но сдвиг мембранного потенциала ниже некоторого порогового значения $\phi_{\text{пор}}$ (стрелка 2). Однако если амплитуда положительного, деполяризующего импульса генератора окажется такой, что $\phi_{\text{м}}$ станет больше значения $\phi_{\text{пор}}$, в мембране развивается процесс, в результате которого происходит резкое

повышение мембранного потенциала и мембранный потенциал даже меняет свой знак — становится положительным ($\varphi_{\text{вн}} > \varphi_{\text{нар}}$) (см. рис. 1 б).

Достигнув некоторого положительного значения $\varphi_{\text{рев}}$ — потенциала реверсии, мембранный потенциал возвращается к значению потенциала покоя.

После снятия возбуждения еще в течение 1—2 мс в мембране наблюдаются остаточные явления, во время которых мембрана остается рефрактерной (невозбудимой). Период остаточной рефрактерности показан на графике затемненной зоной.

Новый деполяризующий импульс, такой что $\varphi_{\text{м}} > \varphi_{\text{пор}}$ может вызвать образование нового потенциала действия только после возвращения мембраны в состояние покоя. Причем амплитуда потенциала действия

$$\varphi_{\text{мд}} = \varphi_{\text{мп}} + \varphi_{\text{рев}}$$

не зависит от амплитуды деполяризующего импульса (если только $\varphi_{\text{м}} > \varphi_{\text{пор}}$). Если в покое мембрана поляризована (потенциал цитоплазмы отрицателен по отношению к внеклеточной среде), то при возбуждении происходит деполяризация мембраны (фаза 1 на рис. 1 б), и после снятия возбуждения происходит реполяризация мембраны (фаза 2 на том же рисунке). Термин деполяризация означает исчезновение поляризации, а «реполяризация» - ее последующее восстановление.

Основные свойства потенциала действия:

- 1) ПД — это короткий импульс $\varphi_{\text{м}}$ длительностью 2—3 мс;
- 2) наличие порогового значения деполяризующего потенциала $\varphi_{\text{пор}}$;
ПД возникает тогда и только тогда, когда выполняется условие:

$$\varphi_{\text{м}} > \varphi_{\text{пор}} \quad ,$$

при этом амплитуда ПД остаётся постоянной. В физиологии это условие принято называть законом «все или ничего», т. е. если деполяризующий потенциал больше порогового, развивается потенциал действия, амплитуда которого не зависит от амплитуды возбуждающего импульса и потенциал действия не возникает, если амплитуда деполяризующего потенциала меньше пороговой;

- 3) после фазы реполяризации наступает период остаточной рефрактерности, невозбудимости мембраны, который на рис. 1 б показан затемнением;
- 4) в момент возбуждения резко уменьшается сопротивление мембраны: 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 нернстовских потенциалов, созданных различными ионами, естественно предположить, что положительный потенциал реверсии имеет натриевую природу, поскольку именно диффузия натрия создает положительную разность потенциалов между внутренней и наружной поверхностями мембраны (1 б).

Ходжкин с сотрудниками изменяли концентрацию ионов натрия в наружной среде и при этом изменялась амплитуда импульса потенциала действия. При уменьшении наружной концентрации натрия

амплитуда потенциала действия уменьшалась, так как менялся потенциал реверсии. Если из окружающей клетку среды полностью удаляли натрий, потенциал действия вообще не возникал.

Опыты, проведенные с радиоактивным изотопом натрия, позволили установить, что при возбуждении проницаемость клеточной мембраны для ионов натрия резко возрастала.

Если в состоянии покоя соотношение относительных коэффициентов проницаемости мембраны аксона кальмара:

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

то в состоянии возбуждения:

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

т. е. при возбуждении коэффициент проницаемости для натрия возрастает в 500 раз по сравнению с невозбужденным состоянием. Расчеты мембранного потенциала реверсии по уравнению, если в него подставить значения проницаемостей мембраны для возбужденного состояния, совпадают с экспериментальными данными.

Процесс возбуждения мембраны определяется тем, что сумма ионных потоков через мембрану не равна 0 (как в покое) и через неё протекает мембранный ток I_m

Электрический ток через мембрану при ее возбуждении складывается из ионных потоков: калия — I_K , натрия — I_{Na} и других ионов в том числе СГ, так называемого тока утечки $I_{ут}$, а также емкостного тока I_c .

Литература:

4. Л.Д. Бергельсон «Мембраны, молекулы, клетки»
5. В.К. Лيشко «Мембраны и жизнь клетки»
6. Б.И. Губанов «Медицинская биофизика».
4. А.Н. Ремизов «Медицинская и биологическая физика»
5. В.Ф. Антонов «Биофизика»