

Přednášky z lékařské biofyziky

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně

Biologické membrány a bioelektrické jevy

Autoři děkují doc. RNDr. K. Kozlíkové, CSc., z LF UK v Bratislavě za poskytnutí
některých obrazových podkladů

Bioelektrické jevy

- Elektrické signály hrají klíčovou roli při řízení všech životně důležitých orgánů. Zabezpečují rychlý přenos informací v organismu. Šíří se vlákny buněk nervového systému i svalovými buňkami, kde spouštějí řetězec dějů, vedoucí k jejich kontrakci. Jsou zahrnuty v základních mechanizmech funkce smyslových a jiných orgánů.
- Vznikají na buněčné úrovni v membránových systémech, jejich šíření je doprovázeno vznikem elektromagnetického pole v okolním prostředí.
- Registrace elektrických nebo magnetických signálů na povrchu těla je podstatou významných klinických diagnostických metod.

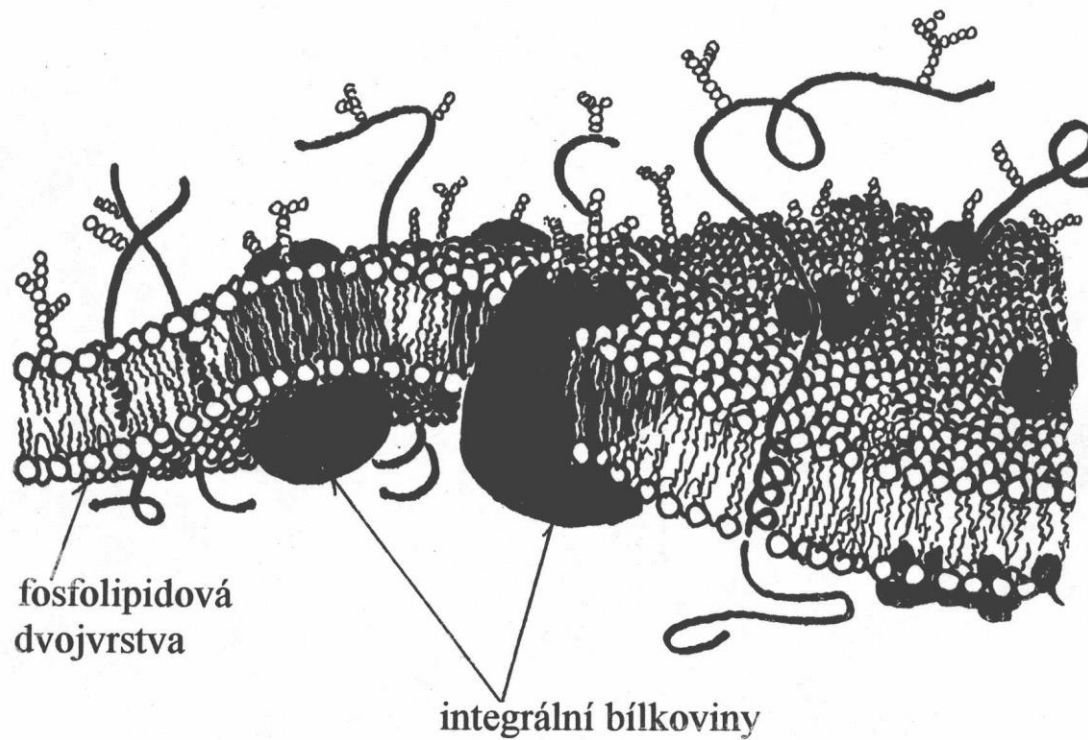
Biologická membrána

- Předpokladem k pochopení vzniku klidového i činnostního napětí je znalost struktury a vlastností biologické membrány.
- Jejím základem je elektricky nevodivá tenká dvojvrstva (6-8 nm) molekul fosfolipidů. Do této membrány jsou zabudovány makromolekuly bílkovin, které plní různé funkce. Z hlediska elektrických jevů jsou zcela podstatné dva druhy bílkovinných struktur, které podle jejich funkce budeme označovat jako *kanály* a *přenašeče*. V obou případech se jedná o transportní mechanismy, umožňující přenos iontů přes nevodivou fosfolipidovou membránu.

Funkce biologických membrán

- Tvoří rozhraní mezi buňkami i uvnitř buněk.
- Udržují stálé chemické složení uvnitř ohraničených prostorů, a to selektivními transportními mechanismy.
- Jsou prostředím pro rychlou biochemickou transformaci pomocí enzymových systémů.
- Specifická struktura a selektivní iontová propustnost je základem bioelektrických jevů

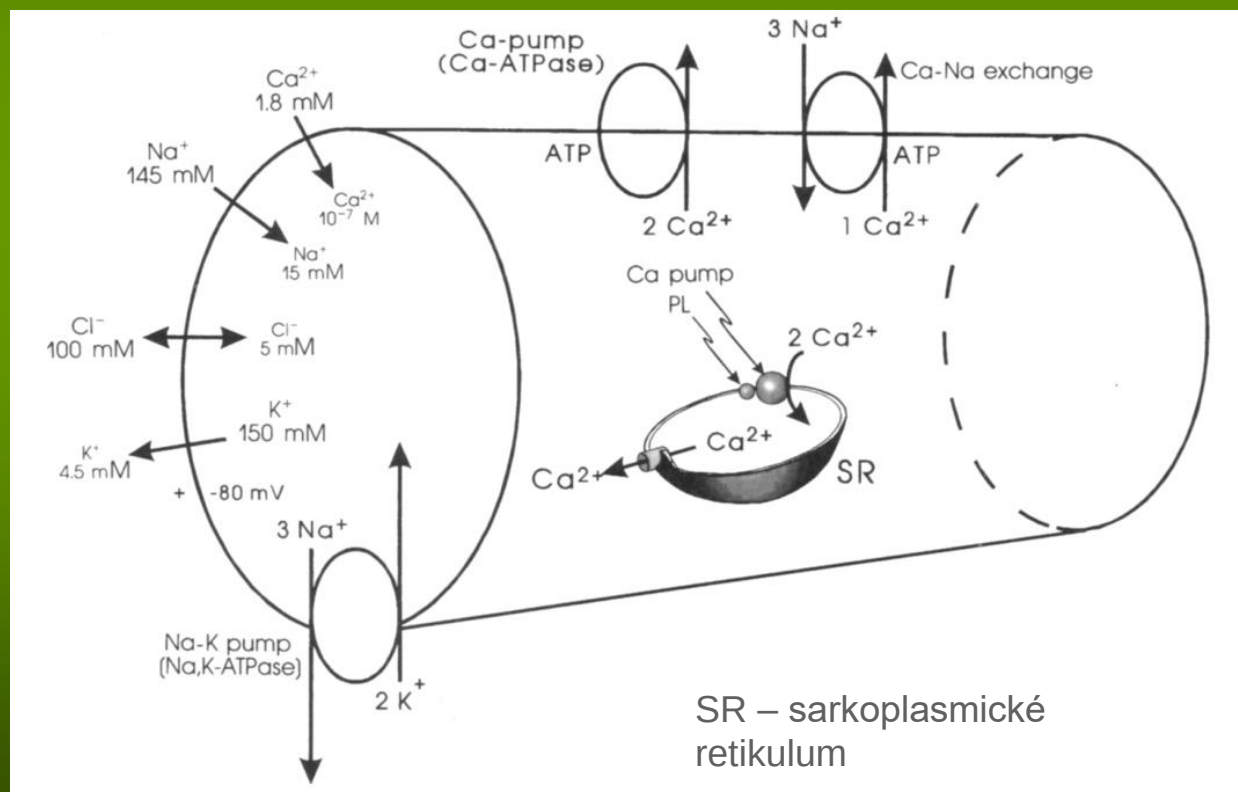
Struktura membrány



Dráždivost

- Specifická vlastnost všech živých systémů reagovat určitým způsobem na nějaký podnět.
- Důležitá podmínka adaptace živého organismu na prostředí.
- Zvláště významná je tato vlastnost u smyslových buněk a u tzv. vzrušivých tkání (nervové a svalové).
- Každý typ vzrušivé tkáně reaguje nejsnáze na určitý energetický impuls (adekvátní podnět). Jiným energetickým impulsem lze sice také vyvolat podráždění, ale při mnohem vyšší energii (neadekvátní podnět).

Distribuce iontů v extracelulárním a intracelulárním prostředí svalové buňky



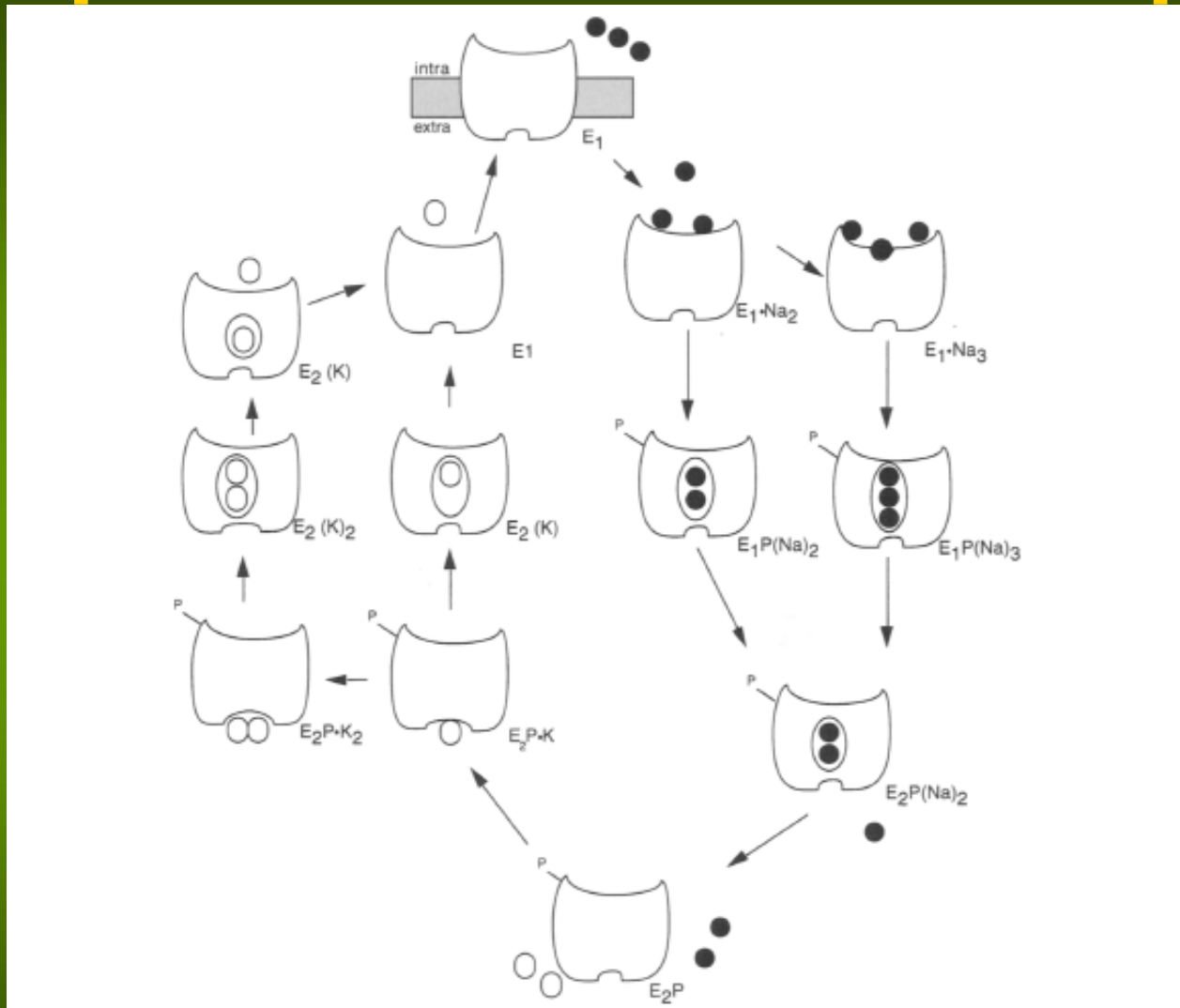
Přenašečové systémy

- V membránách buněk bylo odhaleno více přenašečových systémů. Jeden z nich, označovaný jako *sodíková-draslíková pumpa* (*Na/K pumpa* nebo *Na⁺-K⁺-ATP-áza*) má však pro vytvoření podmínek vzniku membránového napětí zcela základní význam. Vytěsňuje Na-ionty z buňky výměnou za K-ionty a tím zajišťuje, že koncentrace obou zúčastněných iontů v intracelulárním a extracelulárním prostředí (budeme je značit $[Na^+]$, $[K^+]$ a odlišíme je indexy i , e) jsou rozdílné, přičemž platí:

$$[Na^+]_e \gg [Na^+]_i, \quad [K^+]_i \gg [K^+]_e.$$

Funkce *Na/K pumpy* vyžaduje stálý přísun energie, kterou molekulám přenašeče poskytují v intracelulárním prostředí přítomné molekuly adenosintrifosfátu (*ATP*).

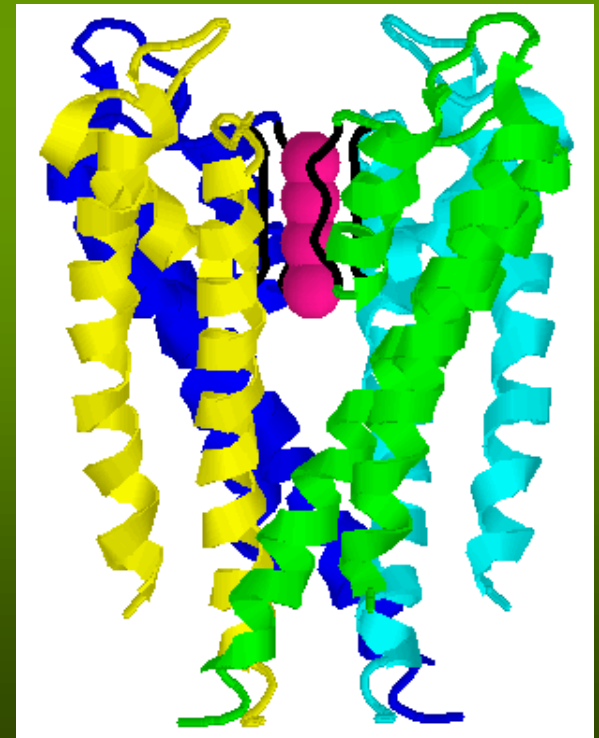
Princip sodíkové-draslíkové pumpy



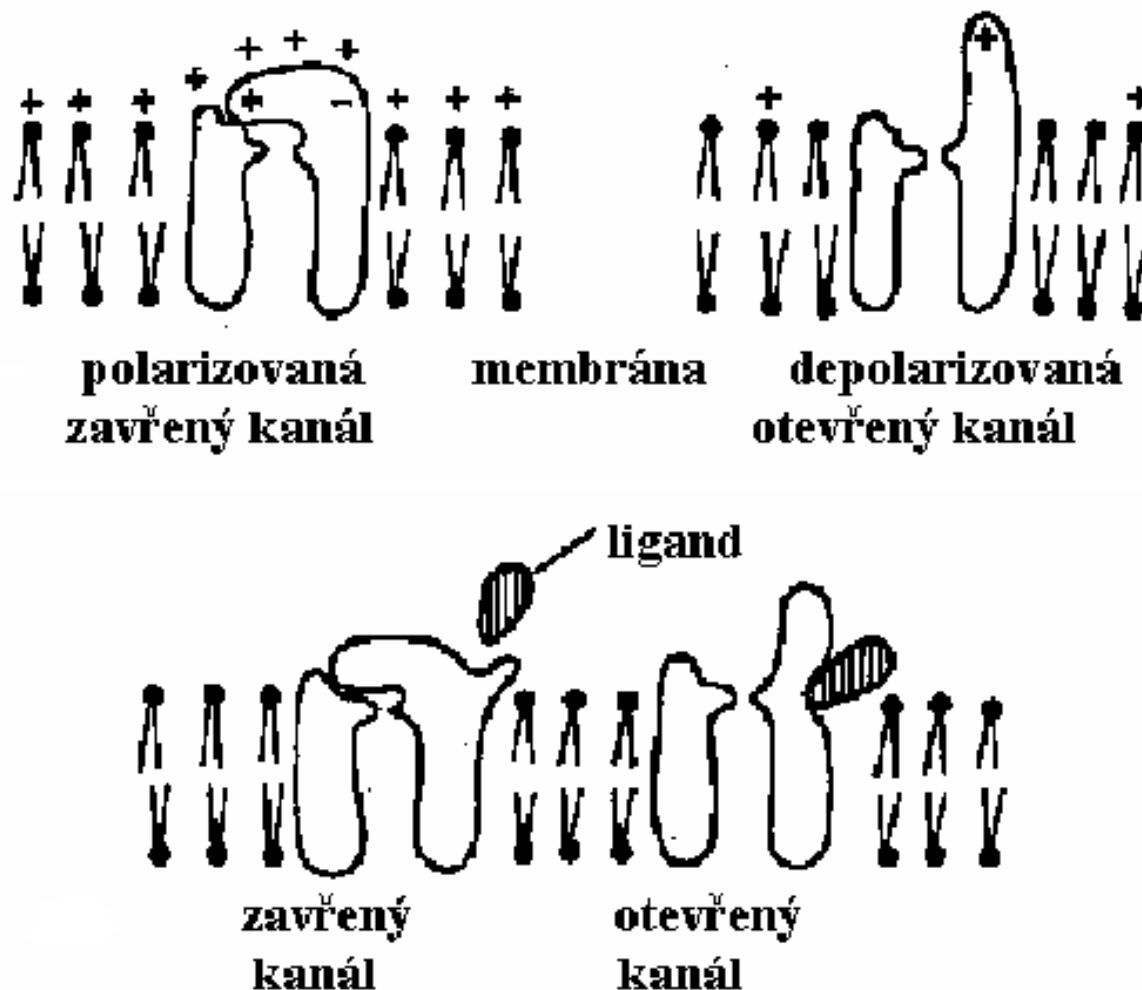
Na vnější straně membrány dojde k uvolnění sodných iontů a ke konformační změně přenašečové molekuly, na niž se naváží draselné ionty, které jsou přeneseny dovnitř buňky.

Kanály

- Jsou to bílkovinné molekuly, avšak na rozdíl od přenašečů, které mají pevná vazebná místa pro přenášené ionty, vytvářejí v membráně póry přístupné pro vodu. Otevírání a uzavírání těchto kanálů (tzv. *vrátkování*) se může dít několika mechanismy. Vedle změn elektrického pole je vrátkování některých kanálů ovládáno jinými podněty (chemickou vazbou látek, mechanickým napětím aj.).
- Průchod iontů celým kanálem nelze považovat za volnou difuzi. Většina kanálů je totiž charakterizována větší či menší mírou selektivity v propustnosti iontů. V tomto smyslu hovoříme o sodíkových, draslíkových, vápníkových nebo chloridových kanálech.
- Transport iontů kanály nevyžaduje dodání energie.



Elektrické a chemické vrátkování

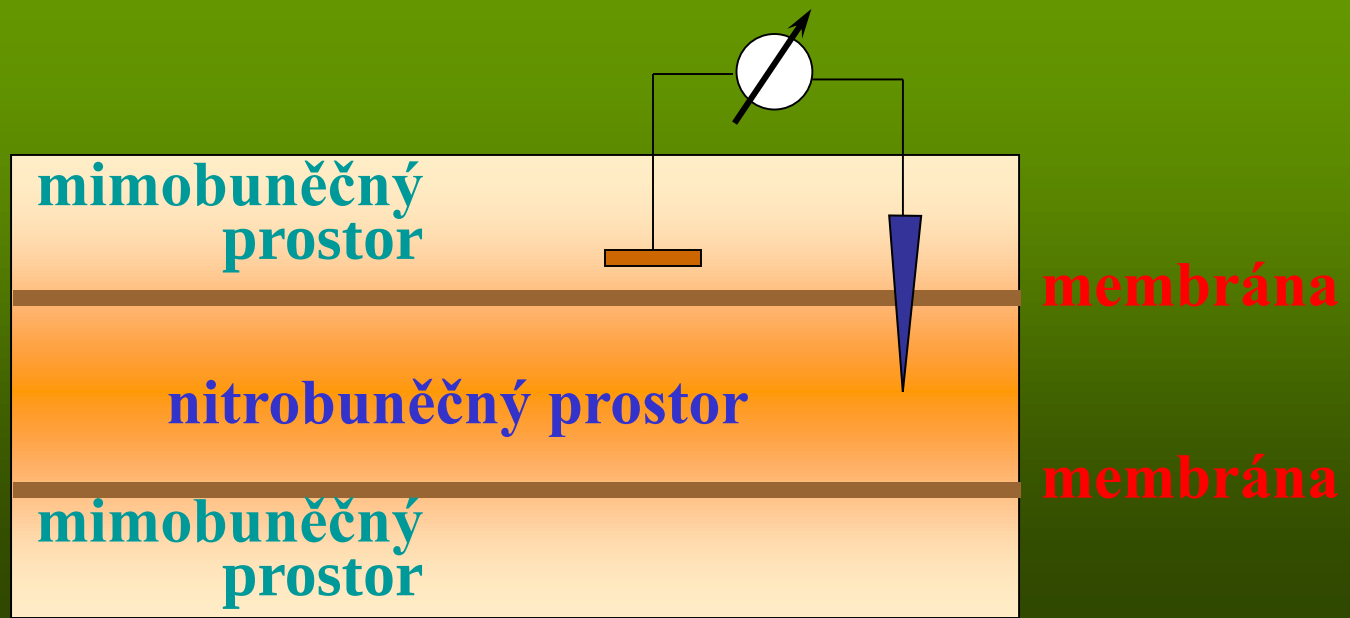


Klidový membránový potenciál

Klidové membránové napětí (1)

membránové napětí je potenciálový rozdíl mezi mikroelektrodou zavedenou do buňky (*negativní potenciál*) a povrchovou elektrodou mimo buňku (*nulový potenciál*)

Používají se nepolarizovatelné elektrody



Klidové membránové napětí (2)

je převážně způsoben nerovnoměrným rozložením iontů na vnitřní a vnější straně membrány

Jeho hodnoty závisí na:

- typu buňky
- druhu živočicha, z něhož buňka pochází
- u identických buněk – na skladbě a koncentraci iontových složek roztoků obklopujících buňky

Hodnota klidového membránového napětí při normálním iontové skladbě IC a EC tekutiny je v rozmezí od -100 mV do -50 mV)

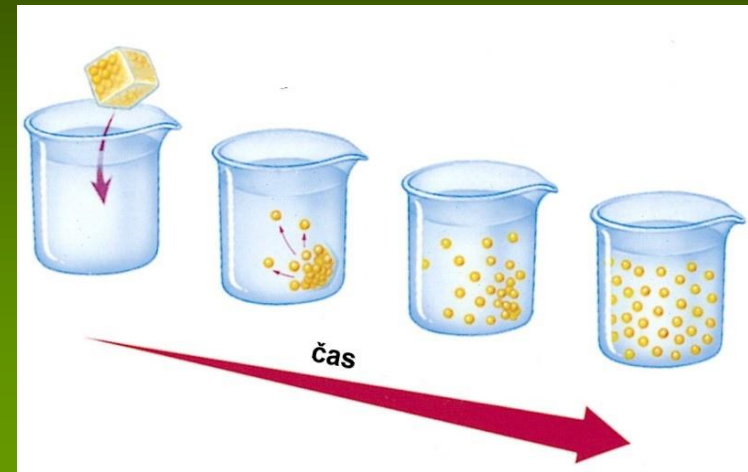
tloušťka membrány ~ 10 nm

intenzita elektrického pole v membráně pak činí řádově $\sim 10^7$ V/m

intenzita elektrického pole na povrchu Země $\sim 10^2$ V/m

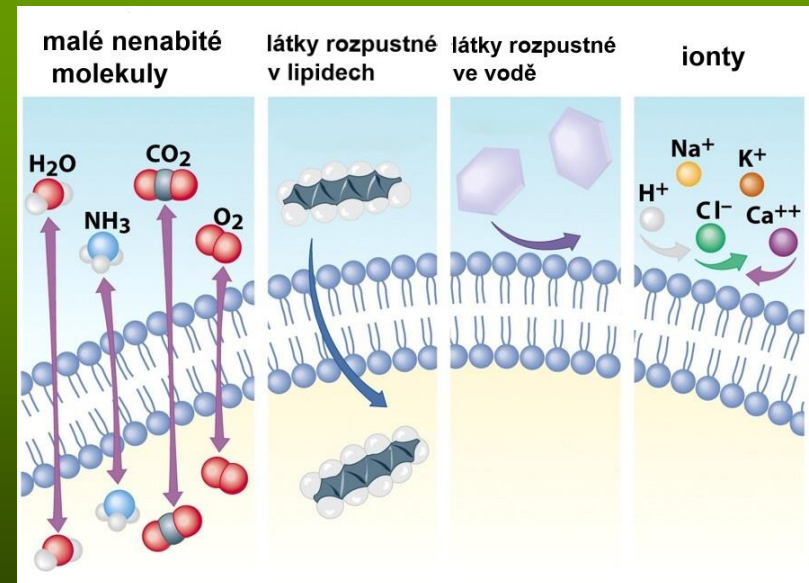
Difuze a permeabilita

Molekuly plynů a kapalin jsou v neustálém pohybu a mají tendenci se pohybovat (difundovat) z oblasti s vysokou koncentrací do oblasti s nízkou koncentrací



Membrány tvoří bariéru pro difuzi, protože propouští jen malé nenabitě částice. Ostatní molekuly prochází pomocí kanálů nebo přenášedčů.

Permeabilita (P) je vlastně difuze přes membránu



Modely klidového membránového potenciálu

(1): **elektrodifuzní:**

- popisují procesy fenomenologicky na základě termodynamiky
- spojují vznik napětí s difuzí iontů přes membránu - Nernstův a Gibbs-Donnanův model, model transportu iontů

(2): fyzikální na bázi chování pevných látek nebo tekutých krystalů:

- popisují pohyb iontů přes membránu a jeho blokování
- uvažují charakteristické vlastnosti strukturních prvků membrány (lipidy, proteiny)

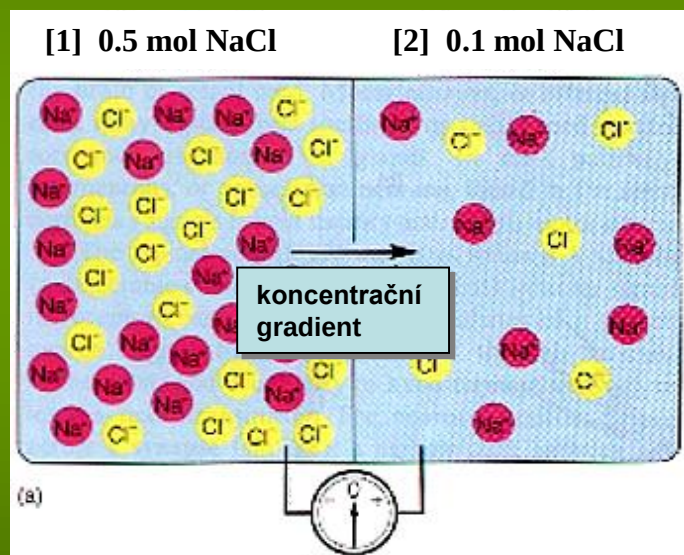
(3): na bázi ekvivalentních elektrických obvodů:

- popisují chování buněk v klidu a při jejich excitaci
- využívají elektrické vlastnosti buněk v souladu s elektrodifuzními a pevnolátkovými modely

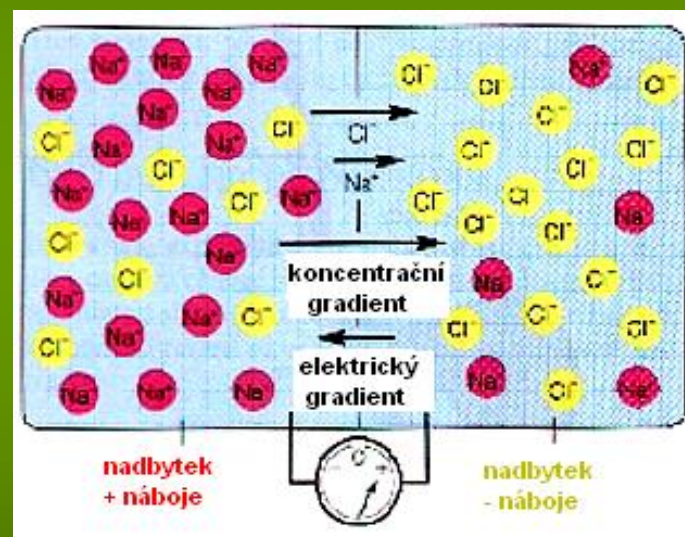
Difuzní napětí (1)

vzniká při difuzi nabitých částic

Difuzní napětí v neživých systémech - roztoky jsou oddělené membránou permeabilní pro Na^+ a Cl^-



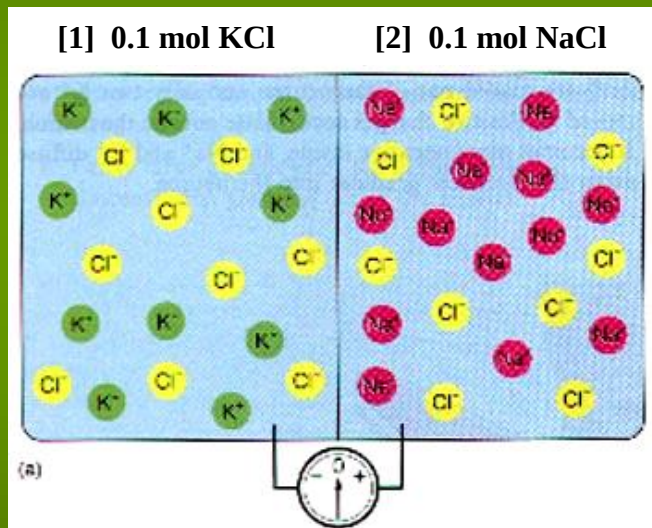
Kompartmenty jsou elektricky neutrální, ale je přítomen koncentrační gradient (na obr. spád)
⇒ difuze iontů z [1] do [2]



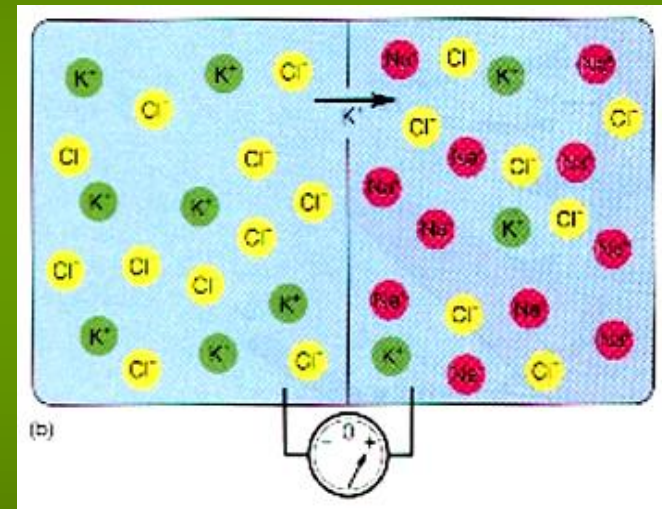
⇒ vznikne dočasné napětí mezi oběma kompartmenty
⇒ **difuzní napětí**

Difuzní napětí (2)

Difuzní napětí v živých systémech - roztoky oddělené membránou selektivně propustnou pro K^+



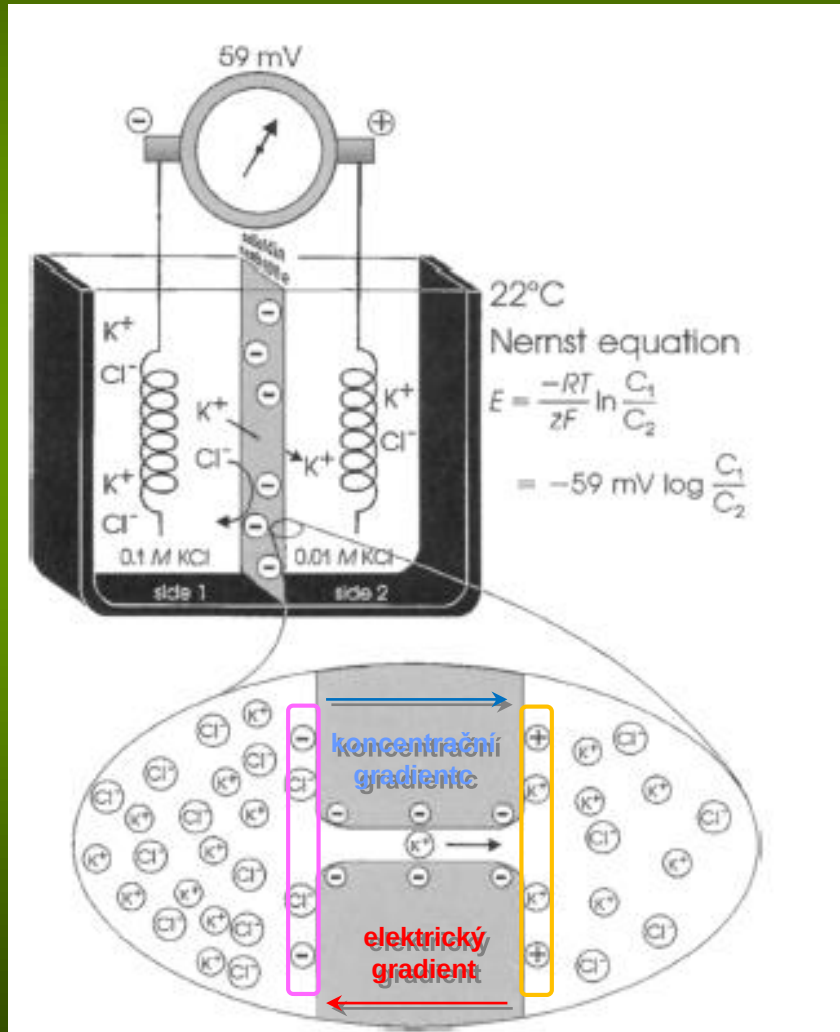
V takovém systému nastává rovnováha, když tam není žádný výsledný tok jednotlivých iontů



⇒ difuze K^+ po jeho koncentračním spádu, dokud nevznikne stejně velký, avšak opačně orientovaný elektrický gradient

⇒ vznikne rovnovážné napětí, je-li výsledný difuzní tok nulový

Jednoduchý případ membránové rovnováhy (1)



nadbytek negativního náboje

nadbytek pozitivního náboje

Týž elektrolyt na obou stranách membrány, ale v různých koncentracích ($c^I > c^{II}$), membrána je permeabilní jen pro kationty

Výsledek:

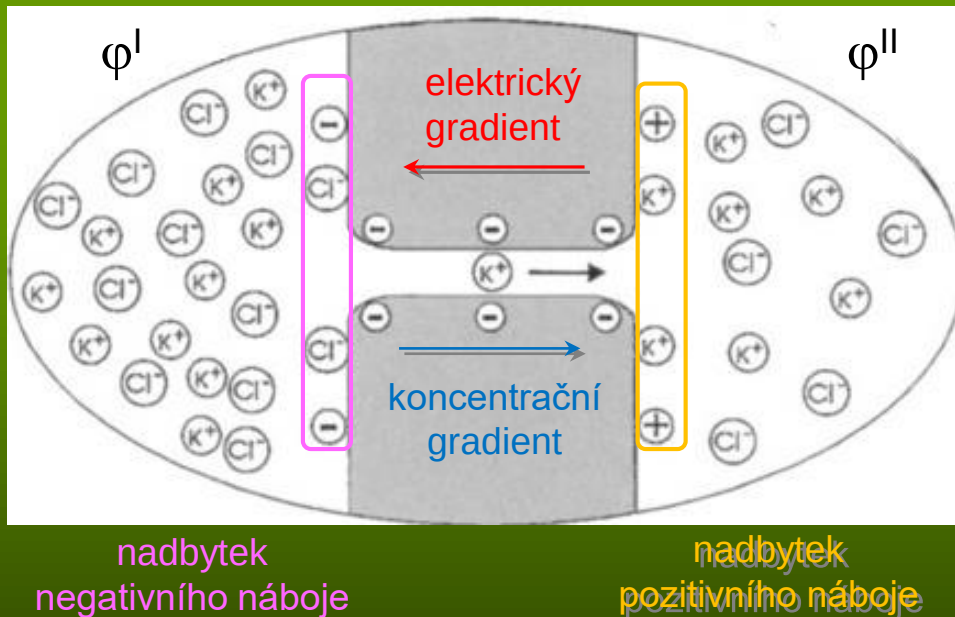
elektrická dvojvrstva vytvoří se na membráně

vrstva 1: anionty zastaveny na straně I

vrstva 2: kationty přitahovány k aniontům (II)

Jednoduchý případ membránové rovnováhy (2)

Koncentrační rozdíl "pohání" kationty, **elektrické pole** dvojvrstvy je "**tlačí zpět**". Malá separace náboje produkuje relativně velký potenciálový rozdíl, U :



$$U = \phi^{II} - \phi^I =$$
$$= - \frac{R \times T}{z_C \times F} \ln \frac{c_K^I}{c_K^{II}}$$

(Nernstova rovnice)

Gibbs-Donnanova rovnováha (1)

Stejný elektrolyt na obou stranách, různé koncentrace ($c^I > c^{II}$), membrána permeabilní pro malé jednomocné ionty K^+ a A^- , nepermeabilní pro R^-

membrána

Elektrolyt I

Elektrolyt II

anionty R^- →

Kationty c_K^I

Anionty c_A^{II}

Anionty c_A^I

Kationty c_K^{II}

difuzibilní ionty: K^+ , A^-
volně difundují

nedifuzibilní ionty: R^-

přítomnost R^- :
nevznikne rovnoměrné
rozdělení K^+ i A^-
⇒ speciální případ rovnováhy -
Donnanova rovnováha

Gibbs-Donnanova rovnováha (2)

Rovnovážné koncentrace:

$$C_K^I \times C_A^I = C_K^{II} \times C_A^{II}$$

membrána

Elektrolyt I

Elektrolyt II

anionty R^- →

Kationty
 c_K^I

Anionty c_A^{II}

Anionty c_A^I

Kationty c_K^{II}

Donnanův poměr:

$$\frac{C_K^I}{C_K^{II}} = \frac{C_A^{II}}{C_A^I} = r$$

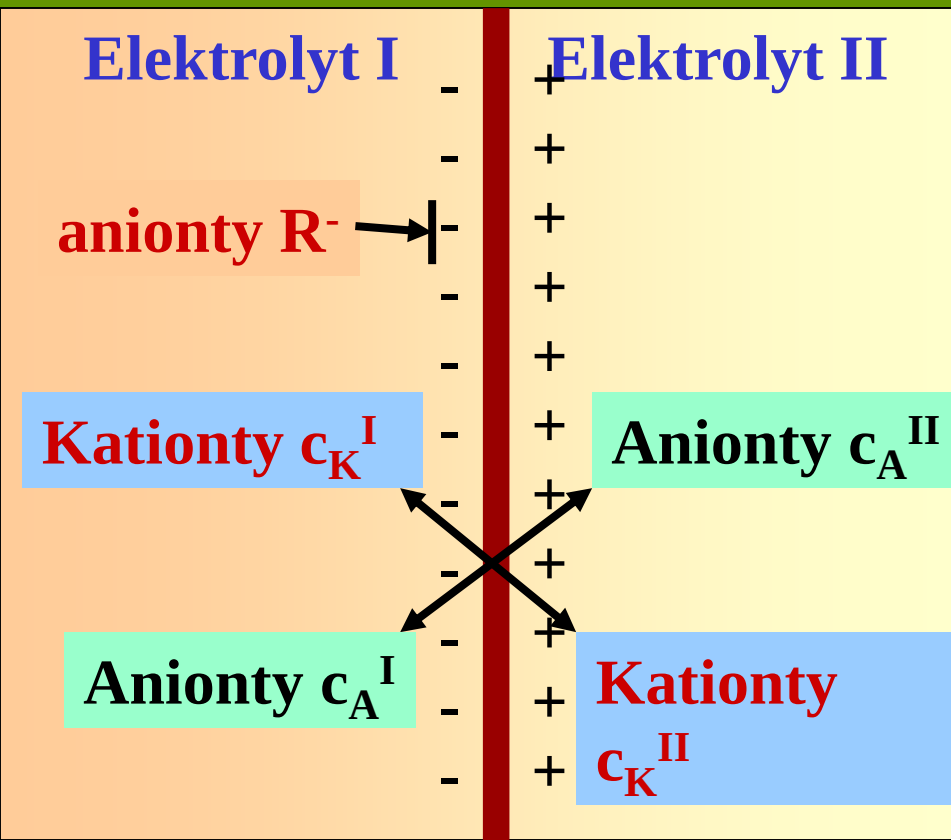
Gibbs-Donnanova rovnováha (3)

Donnanův
poměr:

$$\frac{C_K^I}{C_K^{II}} = \frac{C_A^{II}}{C_A^I} = r$$

$$r = \sqrt[z_i]{\frac{C_i^I}{C_i^{II}}}$$

membrána



Donnanovo napětí:

$$\begin{aligned} U &= \varphi^{II} - \varphi^I = \\ &= -\frac{R \times T}{F} \ln \frac{C_K^I}{C_K^{II}} = \\ &= -\frac{R \times T}{F} \ln \frac{C_A^{II}}{C_A^I} = \\ &= -\frac{R \times T}{F} \ln r \end{aligned}$$

Donnanův model v živé buňce (1)

**buněčná
membrána**

intra

extra

**fosfátové
anionty**

**proteinové
anionty**

Na⁺

K⁺

Cl⁻

Cl⁻

K⁺

difuzibilní: K⁺, Cl⁻
nedifuzibilní: Na⁺, anionty

též bílkoviny a nukleové kyseliny

Koncentrace:

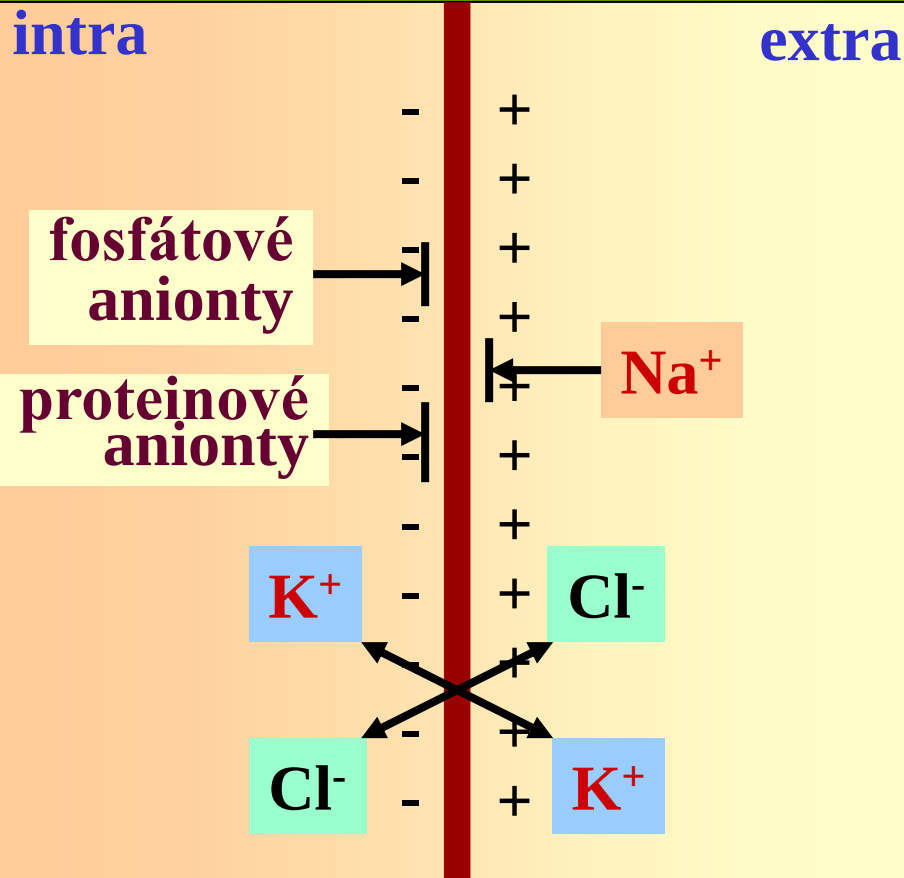
$[K^+]_{in} > [K^+]_{ex}$

$[Cl^-]_{in} < [Cl^-]_{ex}$

Donnanův model v živé buňce (2)

Donnanův
poměr:

$$\frac{[K^+]_{in}}{[K^+]_{ex}} = \frac{[Cl^-]_{ex}}{[Cl^-]_{in}}$$



Donnanovo napětí:

$$\begin{aligned} U &= \varphi_{in} - \varphi_{ex} = \\ &= -\frac{R \times T}{F} \ln \frac{[K^+]_{in}}{[K^+]_{ex}} = \\ &= -\frac{R \times T}{F} \ln \frac{[Cl^-]_{ex}}{[Cl^-]_{in}} \end{aligned}$$

Donnanův model v živé buňce (3)

Donnanovo napětí (klidové napětí) [mV]:

Objekt:	Výpočet:		Měření:
	K^+ :	Cl^- :	
axon sépie	- 91	- 103	- 62
sval žáby	- 56	- 59	- 92
sval potkana	- 95	- 86	- 92

Donnanův model se liší od reality:

- buňka a okolní prostředí se považují za termodynamicky uzavřené systémy
- Nedifuzibilní ionty se považují za úplně nedifuzibilní, membrána není překážkou pro difuzibilní ionty
- zanedbává se vliv iontových pump z hlediska koncentrace iontů
- interakce mezi membránou a ionty se nebere do úvahy

Model transportu iontů (1)

Elektrodifuzní model s menším počtem zjednodušení.

Předpokládáme:

- konstantní koncentrační rozdíl mezi vnější a vnitřní stranou membrány $\Rightarrow$ konstantní transport přes membránu
- migrace iontů přes membránu $\Rightarrow$ elektrická dvojvrstva na obou stranách membrány
- všechny druhy iontů na obou stranách membrány se berou v úvahu současně
- různá nenulová permeabilita pro různé ionty

Model transportu iontů (2)

$$U = \frac{R \cdot T}{F} \cdot \ln \frac{\sum P_{ki} \cdot c_{ki \text{ EXT}} + \sum P_{ai} \cdot c_{ai \text{ INT}}}{\sum P_{ki} \cdot c_{ki \text{ INT}} + \sum P_{ai} \cdot c_{ai \text{ EXT}}}$$

Goldman - Hodgkin - Katz

$$U = \frac{2,3 \cdot R \cdot T}{F} \cdot \log \frac{P_{K^+} \cdot [K^+]_{\text{EXT}} + P_{Na^+} \cdot [Na^+]_{\text{EXT}} + P_{Cl^-} \cdot [Cl^-]_{\text{INT}}}{P_{K^+} \cdot [K^+]_{\text{INT}} + P_{Na^+} \cdot [Na^+]_{\text{INT}} + P_{Cl^-} \cdot [Cl^-]_{\text{EXT}}}$$

P - permeabilita

Model transportu iontů (3)

Tzv. obří axon sépie ($t = 25^{\circ}\text{C}$):

$$p_K : p_{Na} : p_{Cl} = 1 : 0,04 : 0,45$$

Výpočet: $U = - 61 \text{ mV}$

Měření: $U = - 62 \text{ mV}$

Sval žáby ($t = 25^{\circ}\text{C}$):

$$p_K : p_{Na} : p_{Cl} = 1 : 0,01 : 2$$

Výpočet: $U = - 90 \text{ mV}$

Měření: $U = - 92 \text{ mV}$

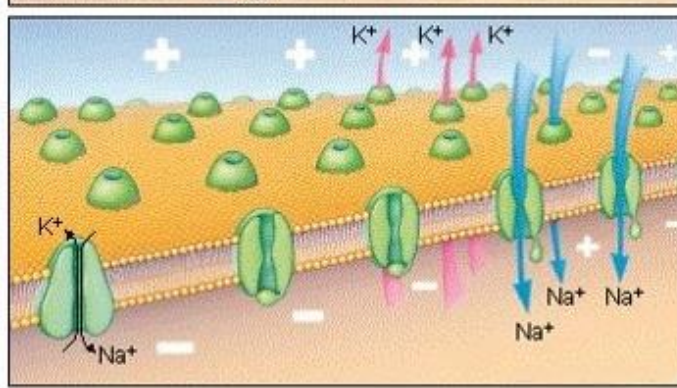
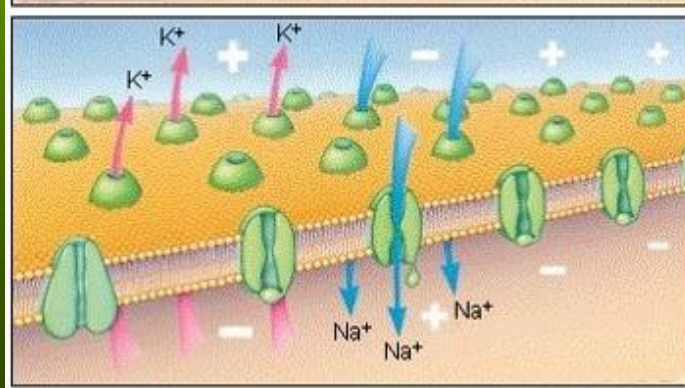
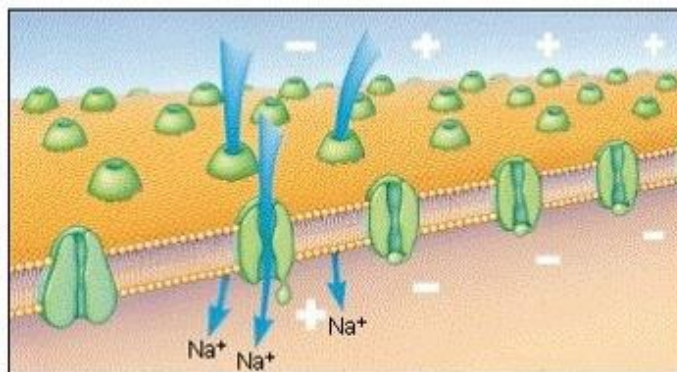
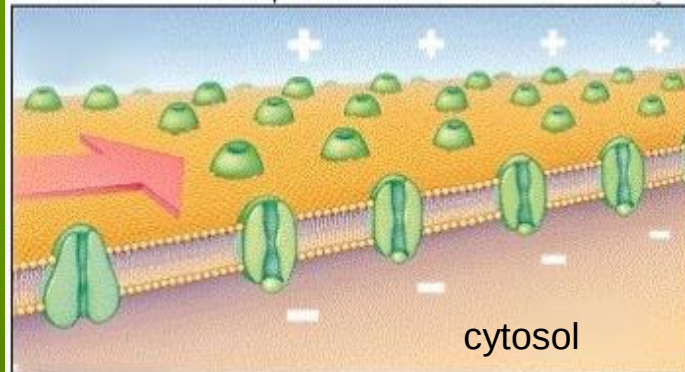
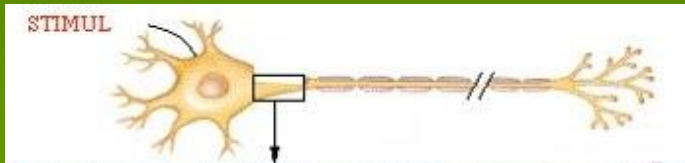
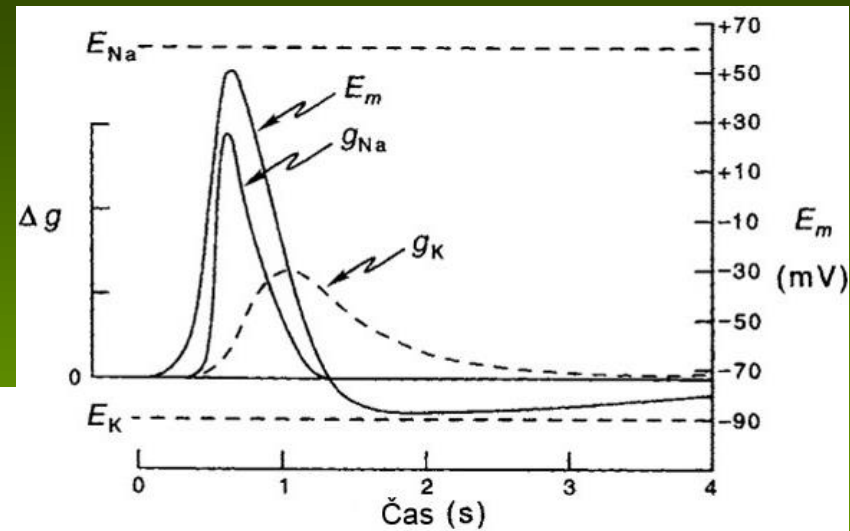
Činnostní
(akční)

potenciál

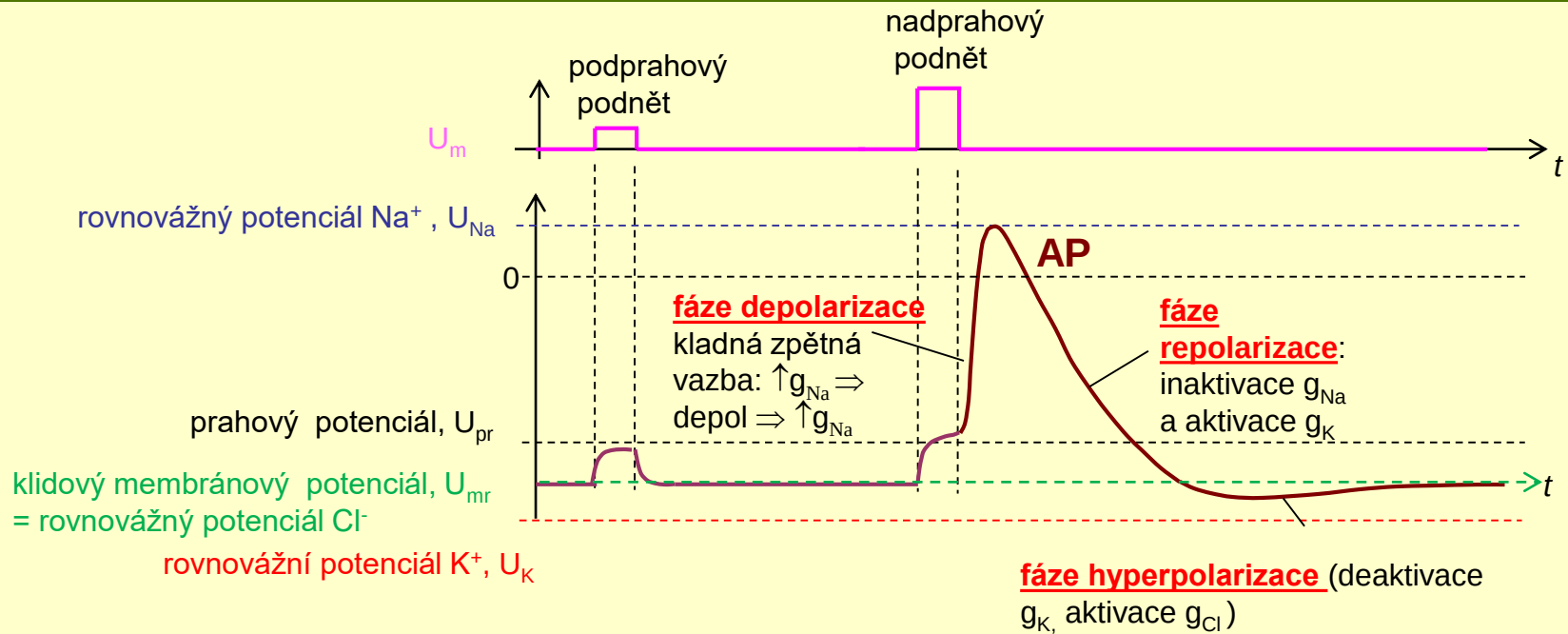
Činnostní (akční) potenciál (1)

- Pojem činnostní potenciál označujeme rychlou změnu klidového membránového napětí vzniklou po nadprahovém podnětu a šířící se do okolních okrsků membrány
- Tato napěťová změna je spojena s prudkou změnou propustnosti kanálů pro sodné a draselné ionty v nervových a svalových buňkách
- Činnostní potenciál může být vyvolán elektrickými nebo chemickými podněty, vedoucími k místnímu snížení klidového membránového napětí

Činnostní (akční) potenciál (2)

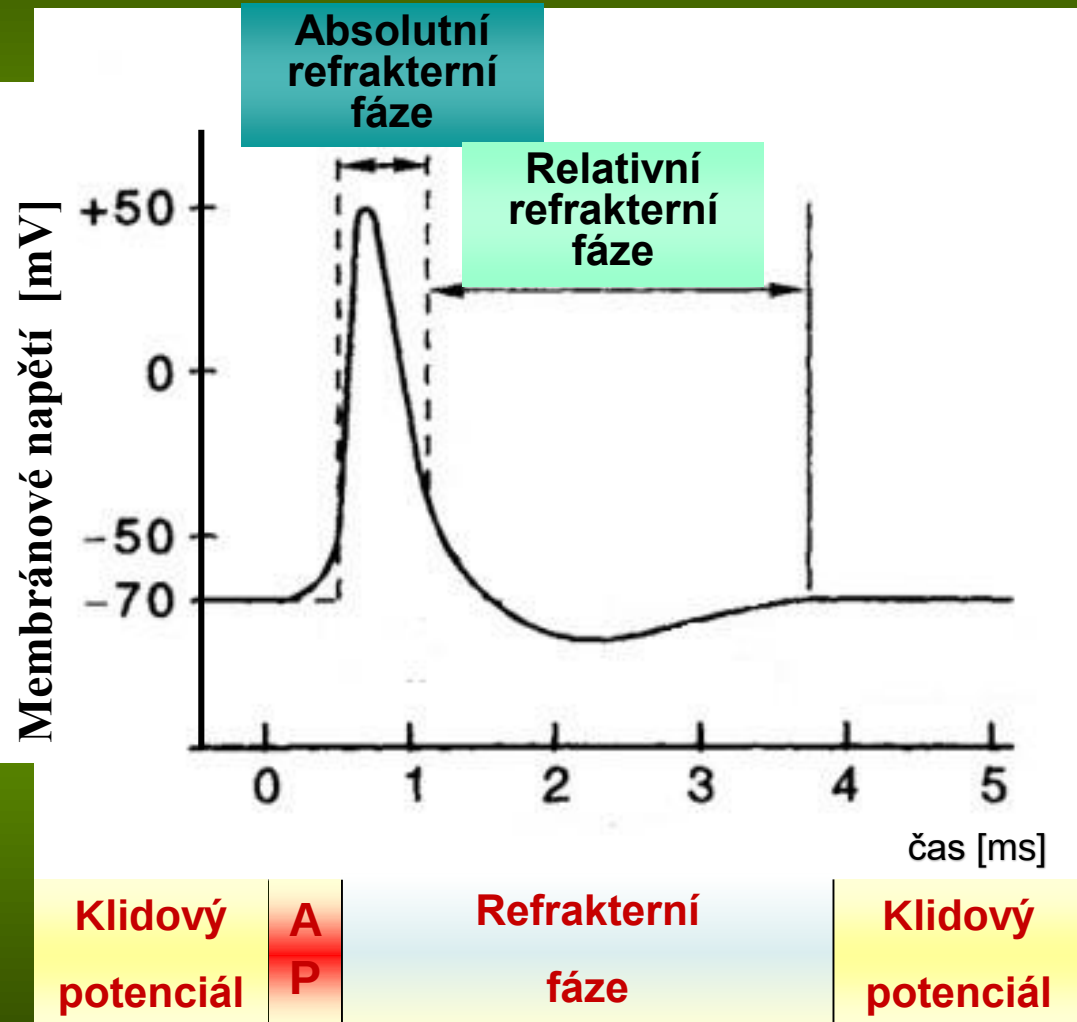


Mechanismus spuštění činnostního potenciálu u neuronů a příčně pruho vaných svalů

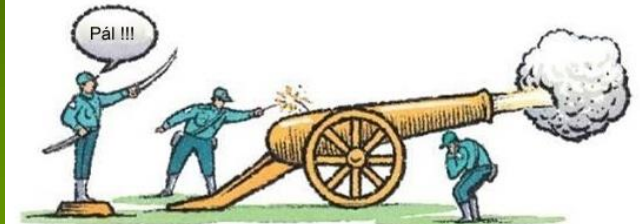


Mechanismus spuštění činnostního potenciálu v buněčné membráně je analogický monostabilnímu klopnému obvodu v elektrotechnice ☺

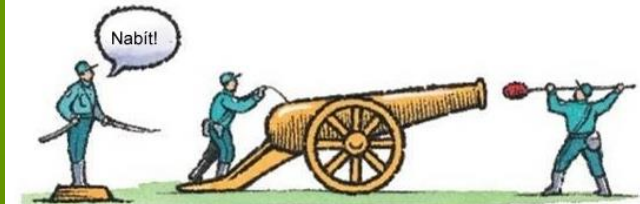
Refrakterní fáze



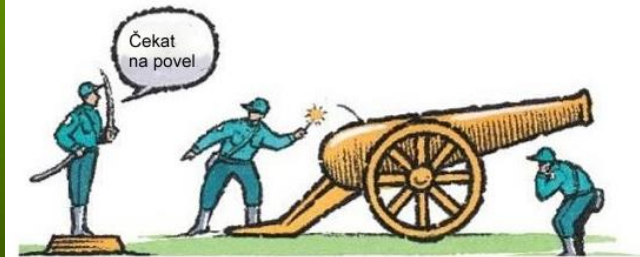
Akční potenciál



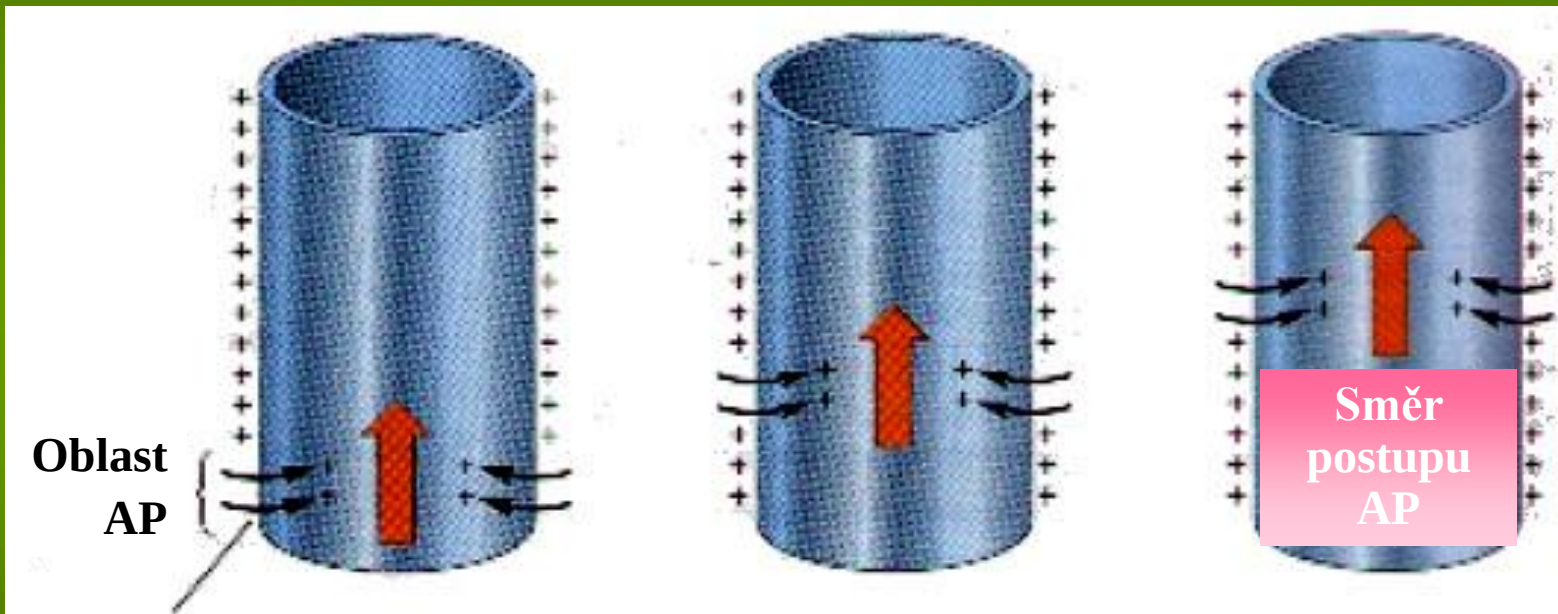
Refrakterní fáze



Klidový potenciál



Vedení vzruchu po membráně

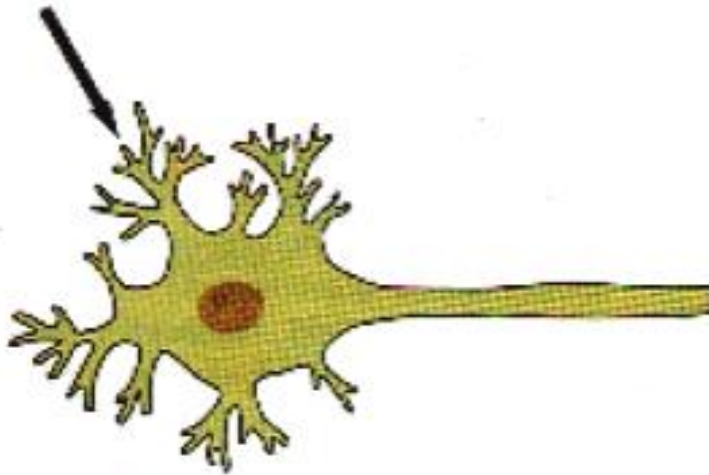


Vedení vzruchu je jednosměrné, protože opačná strana membrány se nachází v refrakterní fázi .

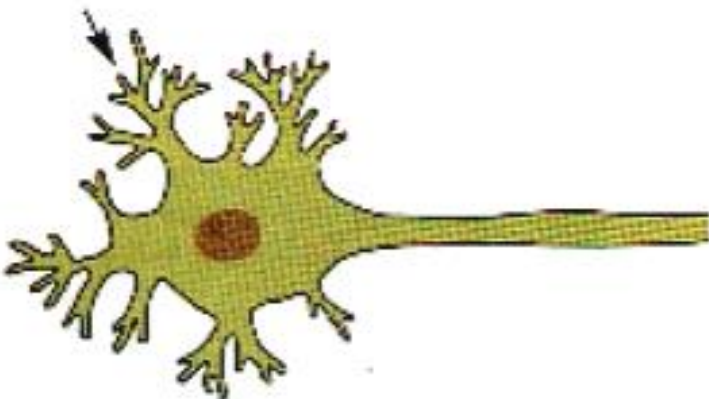
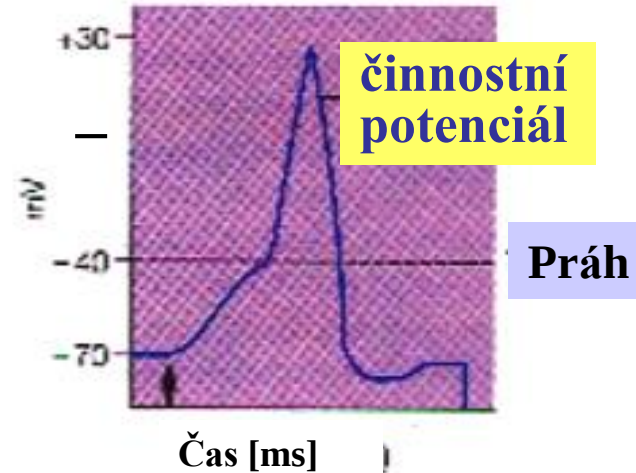
Činnostní potenciál

- Změny v rozložení iontů, k nimž dochází v důsledku činnostního potenciálu, jsou vyrovnávány činností iontových pump (aktivním transportem)
- Činnostní potenciál patří k jevům označovaným jako „vše nebo nic“. Takový jev má vždy stejnou velikost. Zvyšování intenzity nadprahového podnětu se proto projeví nikoliv zvýšením amplitudy činnostního potenciálu nýbrž zvýšením jeho frekvence.

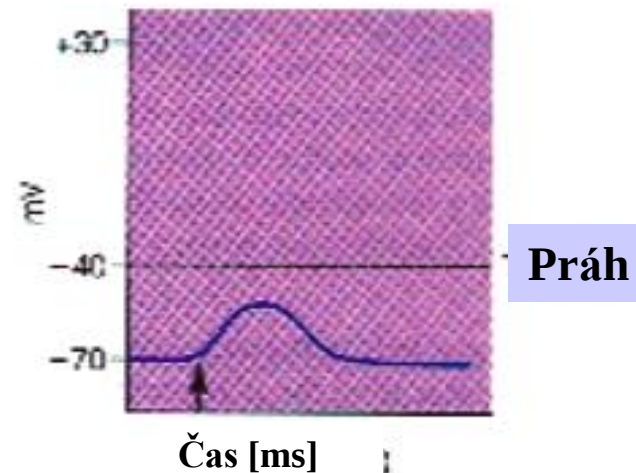
Vznik činnostního (akčního) potenciálu



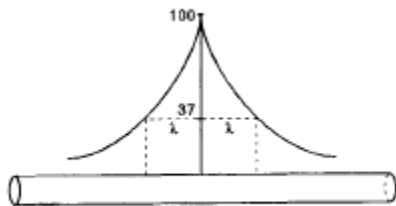
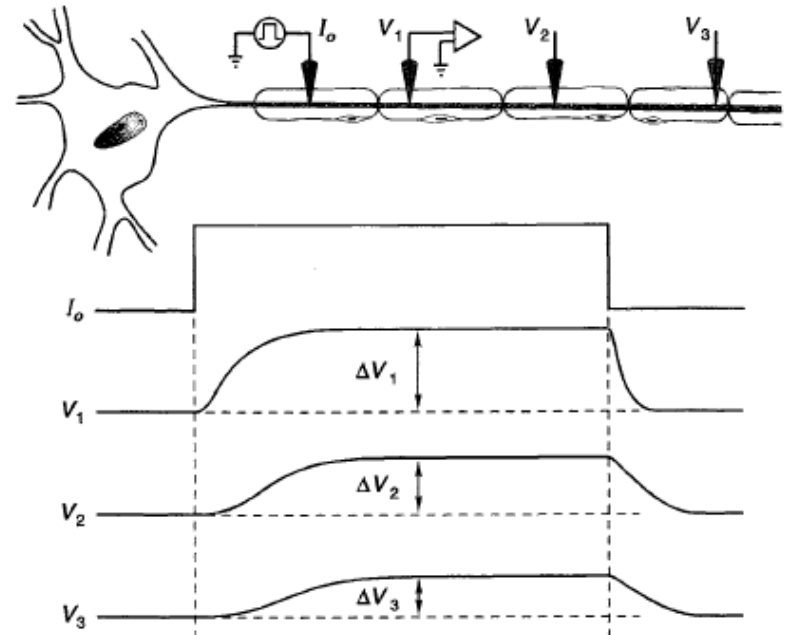
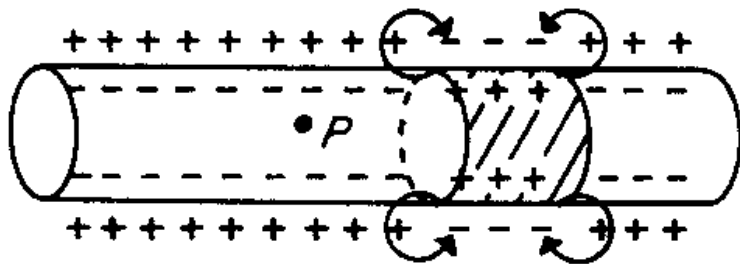
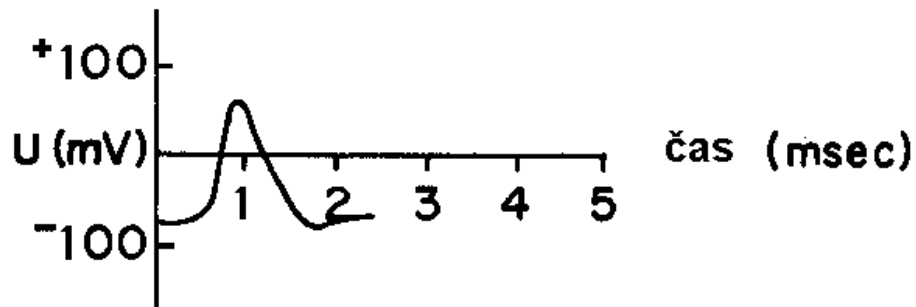
Nadprahový podnět



Podprahový podnět



Šíření činnostního potenciálu



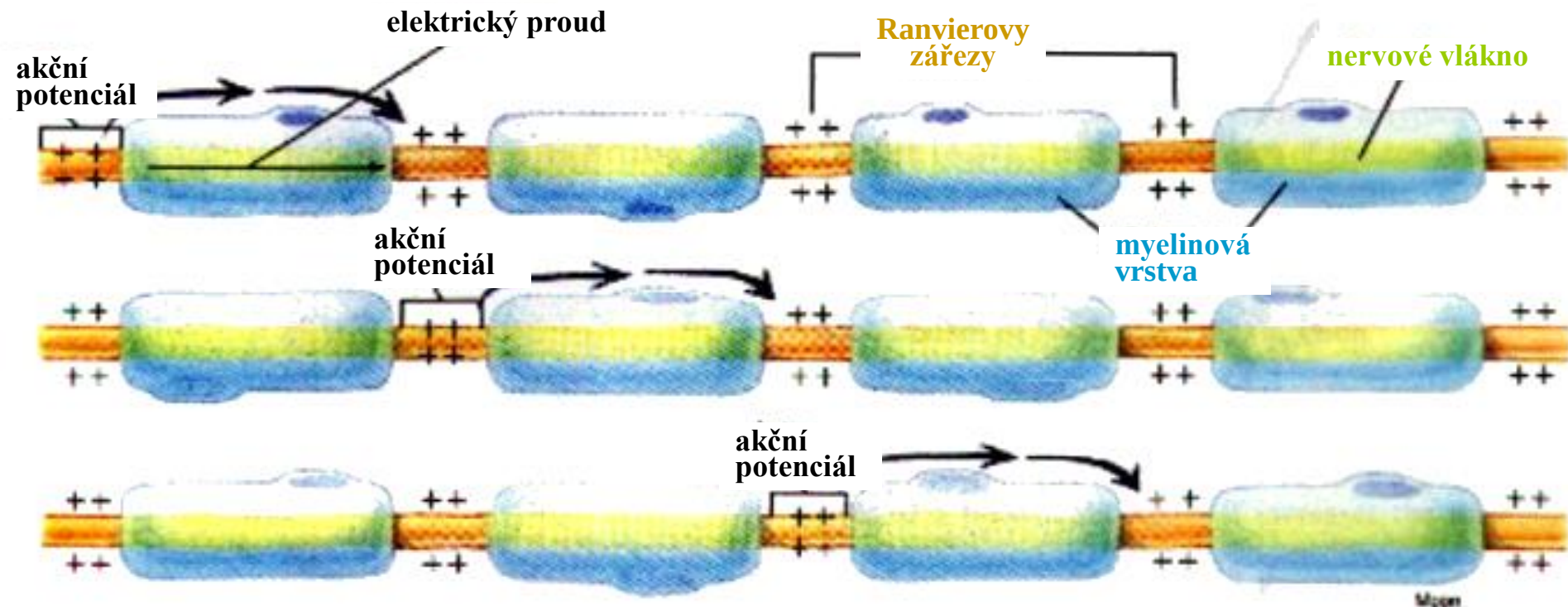
Činnostní potenciál se šíří po membráně jako vlna negativity prostřednictvím místních proudů

Vedení vzruchu po (myelinizovaném) nervovém vlákně

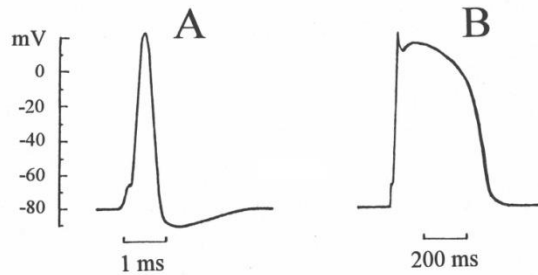
saltatorické – skokem



Myelinizace zvyšuje efektivní odpor, snižuje efektivní kapacitu a tím zlepšuje kabelové vlastnosti nervového vlákna.

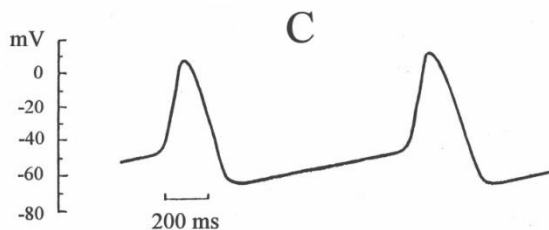


Příklady činnostních potenciálů

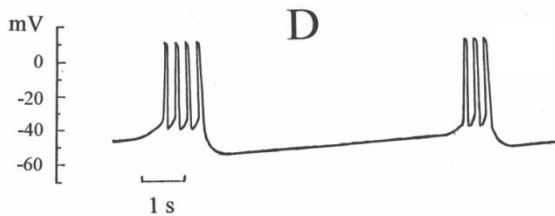


A - nervové vlákno,

B - svalová buňka srdeční komory;



C - buňka sinoatriálního uzlu;



D - buňka hladkého svalu.

Synapse

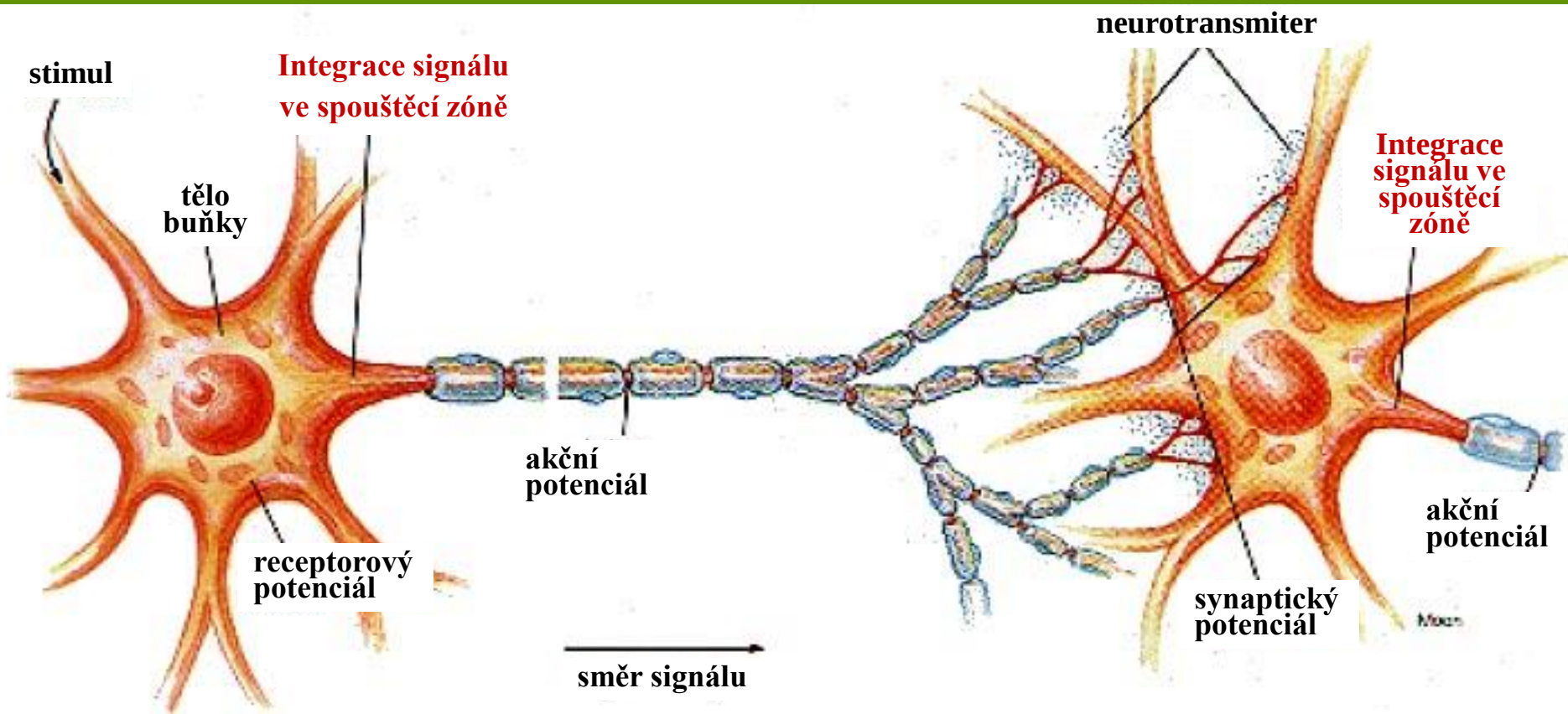
Definice

- **Synapse** představuje specifické spojení mezi nervovými buňkami navzájem a mezi nervovými a jinými cílovými buňkami (např. svalovými), umožňující přenos činnostních potenciálů

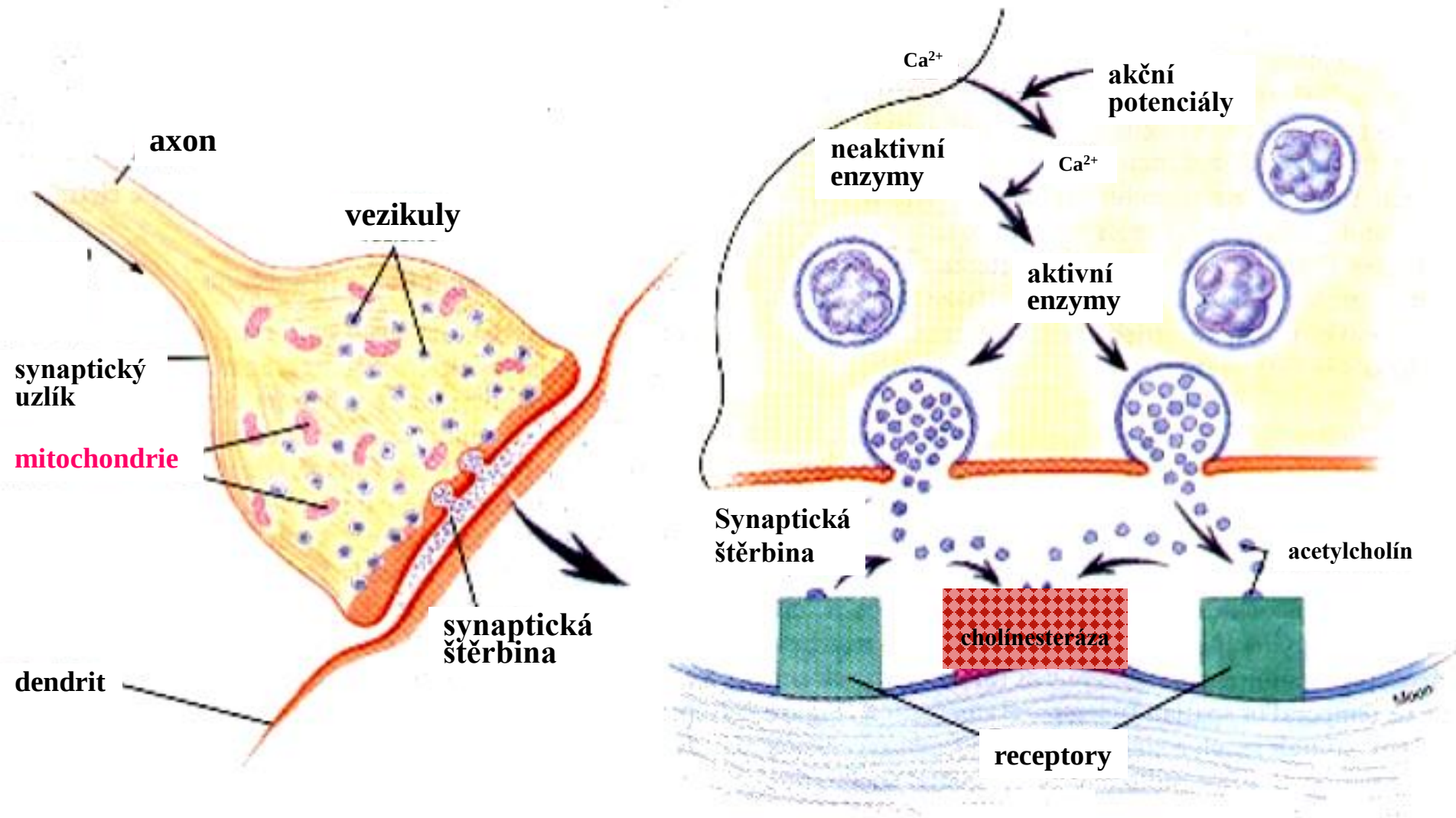
Rozlišujeme:

- **synapse elektrické** – těsné spojení dvou buněk pomocí iontových kanálů, umožňující rychlý oboustranný přenos vzruchu
- **synapse chemické** - jsou častější, jsou vázány na specifické struktury a zajišťují jednosměrný přenos vzruchu

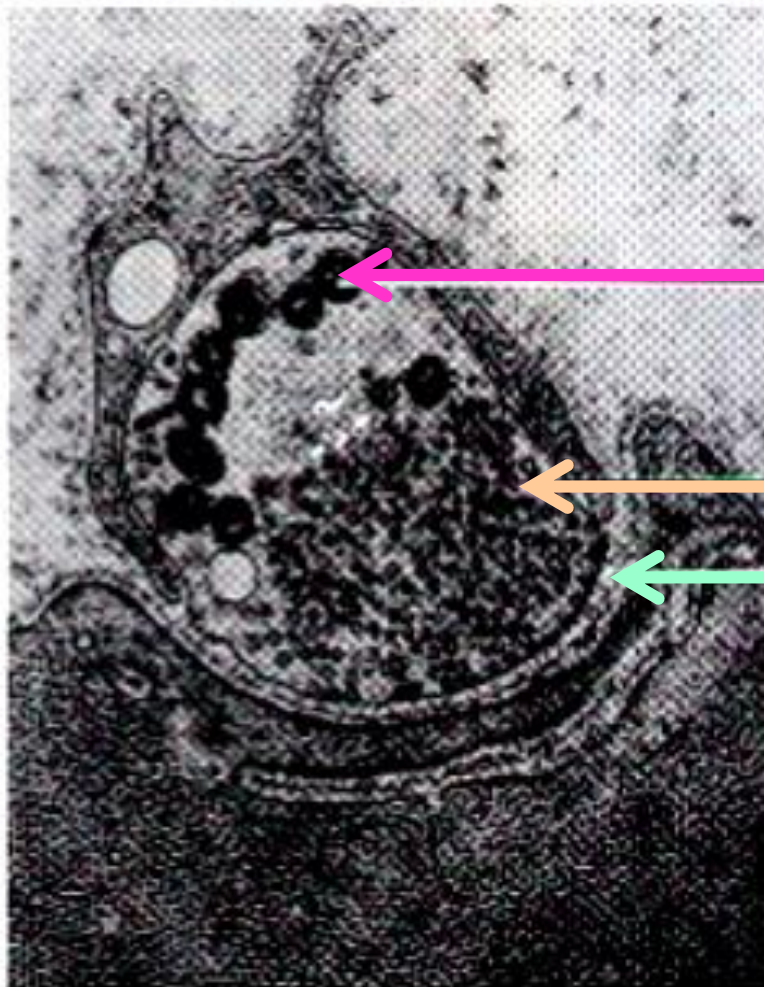
Vedení vzruchu mezi nervovými buňkami



Chemická synapse



Chemická synapse záznam z elektronového mikroskopu



Mitochondrie

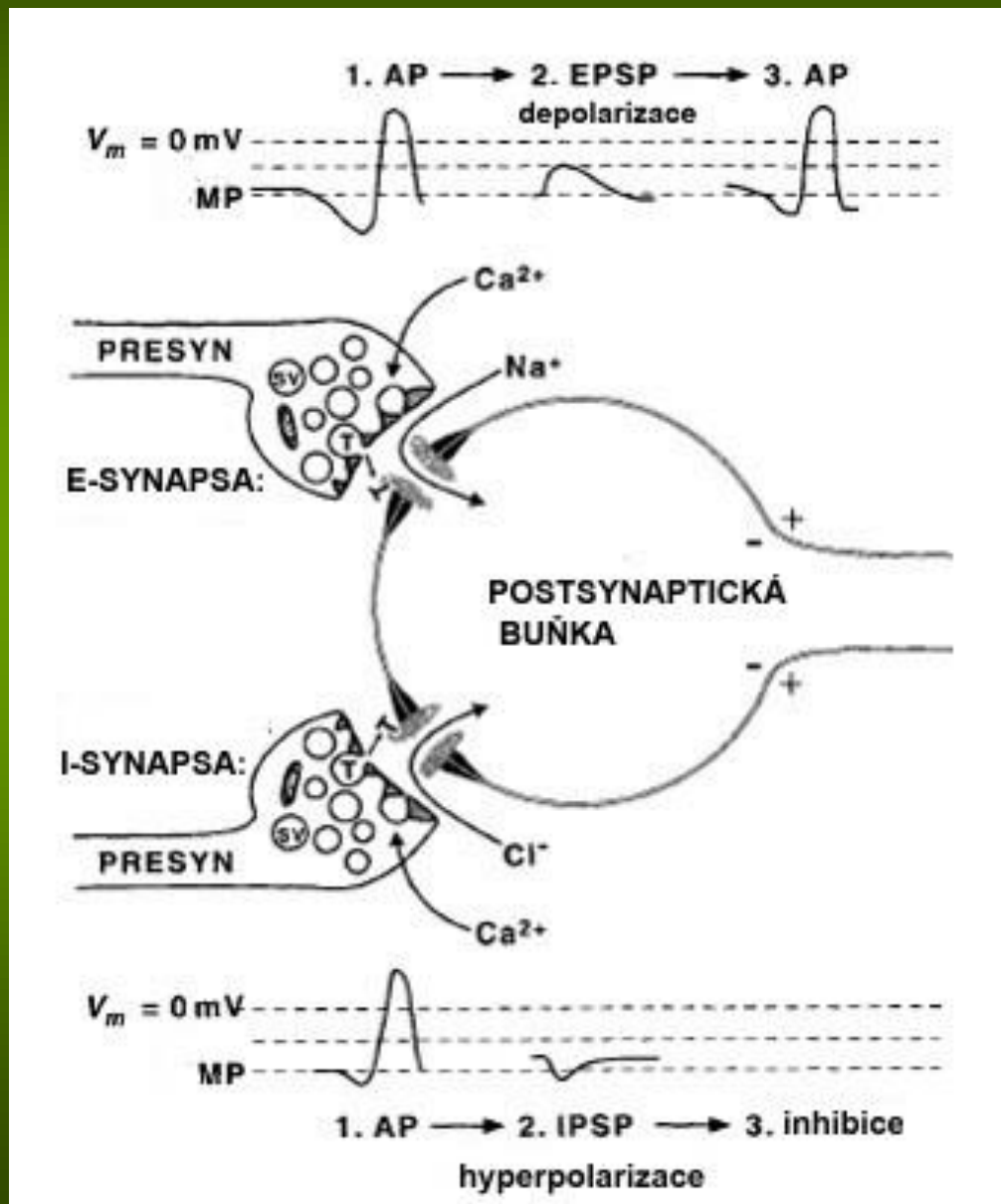
Vezikuly

Synaptická
štěrbina

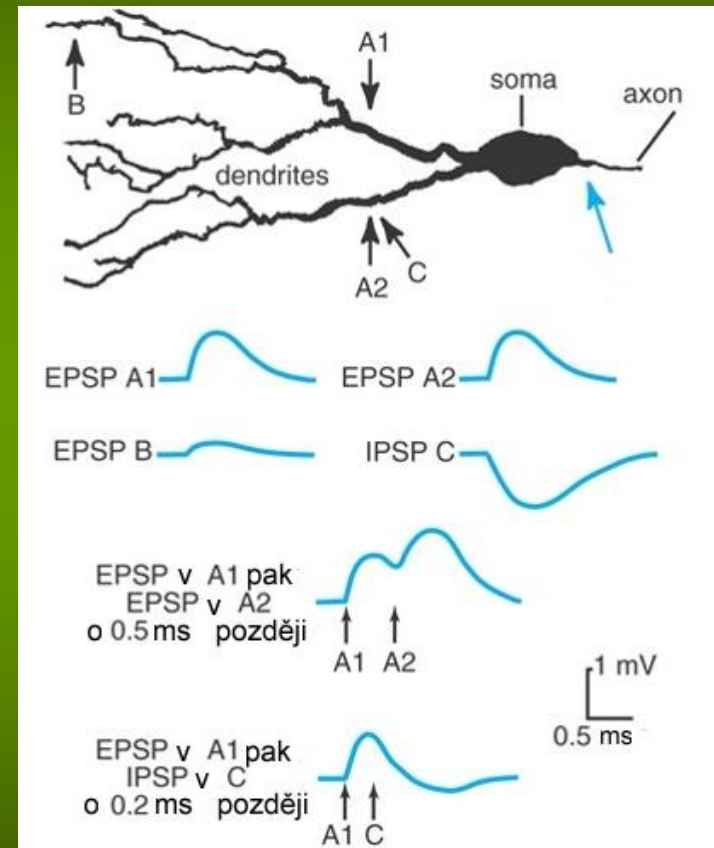
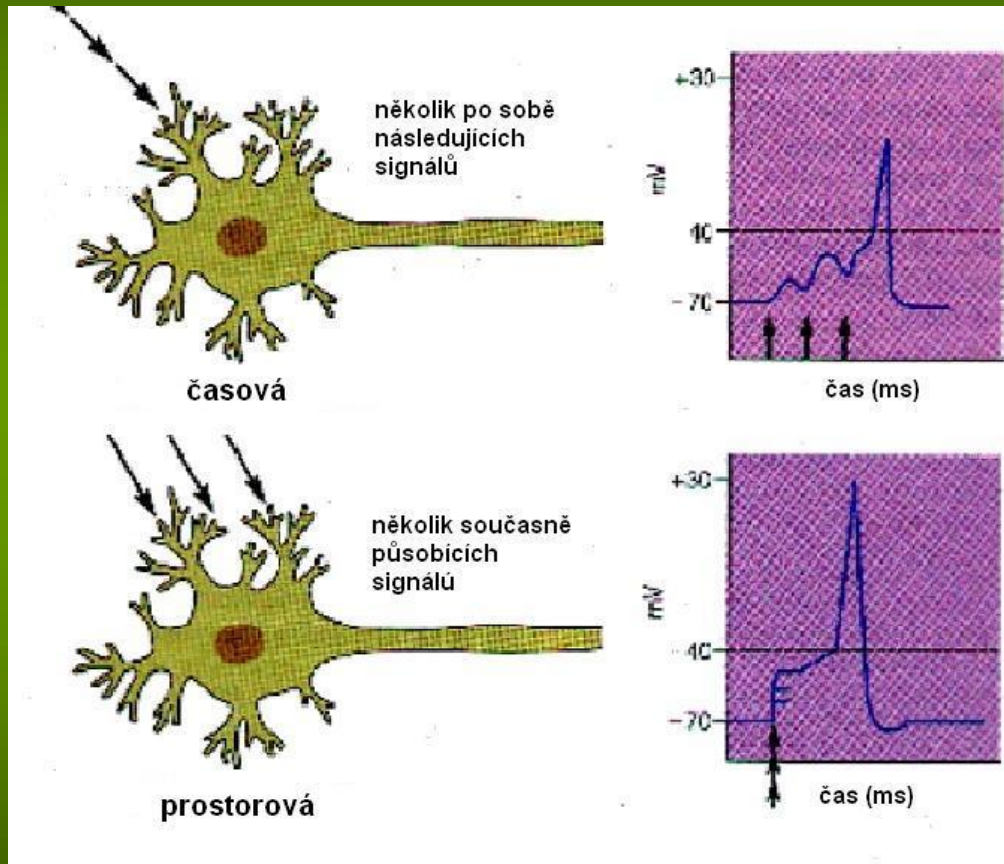
Synaptické mediátory (neurotransmitery)

- Mediátorem excitačních synapsí je nejčastěji **acetylcholin** (v nervosvalových ploténkách a CNS) a **kyselina glutamová** (v CNS). Obě látky působí jako vrátkovací ligandy především pro sodíkové kanály. Průnik sodných iontů do buňky vyvolá potenciálovou změnu membrány v kladném smyslu – depolarizace membrány (excitační postsynaptický potenciál).
- Mediátorem inhibičních synapsí v mozku je kyselina **gama-aminomáselná (GABA)**. Působí jako vrátkovací ligand chloridových kanálů. Chloridové ionty vniklé do buňky vyvolají potenciálovou změnu membrány v záporném smyslu, jejímž důsledkem je hyperpolarizace membrány (inhibiční postsynaptický potenciál)

Excitační a inhibiční postsynaptický potenciál



Sumace vzruchů



Shrnutí

- Elektrické jevy na biologických membránách mají rozhodující význam pro funkci vzrušivých tkání
- Klidový membránový potenciál (fyzikálně správně: membránové napětí) je důsledkem nerovnoměrného rozložení iontů na obou stranách membrány.
- Toto je udržováno dvěma základními mechanismy: selektivně propustnými kanály a přenašečovými systémy. Oba systémy jsou bílkovinné povahy
- Změny membránového napětí po podráždění označujeme jako činnostní (akční) potenciál
- Membrána prochází po podráždění dvěma fázemi: depolarizací – spojenou s vtokem sodných iontů do buňky a následnou repolarizací – spojenou s výtokem draselných iontů z buňky
- V refrakterní fázi je membrána buď zcela nebo částečně nedráždivá
- Synapse představuje místo spojení dvou buněk, umožňující přenos činnostního potenciálu

Autoři:
**Vojtěch Mornstein, Ivo Hrazdira, Veronika
Ostatná**

Poslední revize: Březen 2018