

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
щодо вивчення КМ
БІОФІЗИКА МЕМБРАННИХ СТРУКТУР

Головною метою при вивченні курсу «Біофізика мембранних структур» (БМС) є розуміння студентами фундаментального значення клітинної мембрани та ролі окремих мембранних структур у функціонуванні збудливих тканин. Студенти отримують знання про теоретичні основи біоелектричних процесів та найважливіші сучасні біофізичні та електрофізіологічні методи дослідження збудливих клітин. Вивчаються механізми, які визначають генерування та передачу імпульсації нервовою клітиною, міжнейронну взаємодію. Також студенти знайомляться з основними принципами моделювання електричної активності нервових клітин. Важливе освітнє значення модуля «Біофізика мембранних структур» полягає у його міждисциплінарності: поєднанні біофізичних підходів з фізіологічними (електрофізіологічними), біохімічними, фізико-хімічними, математичного моделювання. Суттєву роль при вивченні курсу БМС відіграє розв'язування задач оціночного характеру. Навички, отримані при розв'язуванні оціночних задач можуть бути корисними як у подальших наукових дослідженнях студентів, так і у їх діяльності у інших галузях.

В біофізиці мембран та електрофізіології можна виділити декілька «вузлових» питань, без глибокого засвоєння яких неможливе розуміння основ функціонування збудливих тканин. При вивченні цих тем студенти часто стикаються з певними труднощами та роблять характерні помилки, допомогти їх уникнути є головною метою написання цих рекомендацій.

Природа мембранного потенціалу клітини та процеси, що призводять до зміни його величини, це, безумовно, базове питання всього курсу. Деякі труднощі при його засвоєнні викликає певне протиріччя між інтуїтивним сприйняттям понять «спокій» та «активність»

з одного боку та тими процесами, що проходять на мембрані клітини у стані спокою та активації. Активний (з використанням енергії АТФ) транспорт іонів через мембрану відбувається у стані спокою, а пасивна дифузія (хоча і полегшена – через селективні канали) призводить до активації (генерації потенціалу дії).

Рівняння Нернста ($\Delta\varphi = \frac{RT}{Fz} \ln \frac{c_i}{c_o}$) має просту форму та нескладно виводиться, проте ця простота дещо оманлива – часто студенти невірно собі уявляють природу утворення мембранного потенціалу. Важливо розуміти, що мембранний потенціал виникає не за рахунок різниці концентрацій іона, що входять у рівняння, а утворюється сумарним електричним зарядом іонів, надлишкова концентрація яких приблизно в 10^5 разів менша.

Також слід звернути увагу на те, що рівняння Нернста описує рівноважний стан, тоді як рівняння Гольдмана-Ходжкіна-Каца ($\Delta\varphi = \frac{RT}{Fz} \ln \frac{P_{Na}[Na]_i + P_K[K]_i + P_{Cl}[Cl]_i}{P_{Na}[Na]_o + P_K[K]_o + P_{Cl}[Cl]_o}$) – стаціонарний. При заданих концентраціях не існує потенціалу, який був би рівноважним для всіх іонів. Можливим є лише стаціонарний стан, при якому встановлюється певний «компромісний» потенціал, що відповідає відсутності переносу через мембрану заряду (рівність нулю алгебраїчної суми усіх іонних струмів). Процес активації нейрона (генерацію потенціалу дії) можна розглядати як послідовні релаксації від потенціалу спокою до рівноважного потенціалу для іонів натрію, потім – калію, а потім – знову потенціалу спокою. Таким чином, рівняння Гольдмана-Ходжкіна-Каца повністю описує активність нейрона, проте вся складність описання полягає у тому, що проникності мембрани для іонів у цьому рівнянні не константи, а функції, що залежать від потенціалу та часу. Саме ці залежності визначають електричну активність нейрона, а їх знаходження є основною задачею при електрофізіологічному дослідженні.

Важливо пам'ятати, що термін «потенціал спокою» відповідає певному значенню мембранного потенціалу, тоді як «потенціал дії» це назва процесу зміни потенціалу на мембрані. «Значення» чи «величина» потенціалу дії не існують, можна говорити про параметри або характеристики потенціалу дії: амплітуда, тривалість тощо.

Аналіз рівняння Гольдмана-Ходжкіна-Каца також допомагає краще зрозуміти різницю між реєстраціями потенціалу («current clamp») та струму («voltage clamp»), які студенти іноді плутають. При активації нейрона змінюються і потенціал, і струм, і провідність. Тому щоб знайти останню, один з перших двох параметрів треба зафіксувати, а інший –

вимірювати. Для кращого засвоєння поняття «потенціал дії» також можна порекомендувати самостійно провести обчислення для змін мембранного потенціалу при заданому законі змін проникностей мембрани для іонів (наприклад, лінійне зростання та спад проникностей для іонів натрію та калію з різними коефіцієнтами).

Якщо питання про природу мембранного потенціалу можна вважати базовим для курсу БМС, то ключовою темою, беззаперечно, є модель Ходжкіна-Хакслі. Більшість труднощів у студентів виникають при вивченні саме цієї теми, детальний розгляд якої у рамках даного тексту просто неможливий. Проте слід звернути особливу увагу на наступні положення.

Еквівалентність (в даний момент часу при заданому потенціалі) провідності та ймовірності відкритого стану іонного каналу.

Модель описує динаміку та залежність від потенціалу іонних струмів, виміряних у експерименті. При цьому важливим є розуміння значення умов, за яких Ходжкін та Хакслі проводили свої досліді. У зв'язку з цим можна запропонувати такі перевіірочні запитання. Які властивості аксона кальмара зумовили його вибір у якості об'єкта досліджень? Чому автори проводили вимірювання при зниженій температурі?

Вигляд залежності ймовірності відкритого стану каналу від часу впливає з кінетичного рівняння для переходу ворітної частинки між двома станами, а від потенціалу та температури – з розподілення Больцмана для енергії стаціонарних станів цієї частинки.

Термін «інактивація» (інактивований стан) каналу та необхідність введення відповідної частинки у модель зумовлена особливістю деяких мембранних струмів (натрієвого, а також деяких типів калієвих та кальцієвих) – спершу відкривання, а потім закривання каналів при деполяризації клітини. Процес інактивації та його залежність від потенціалу відіграє надзвичайно важливу роль у функціонуванні нейрона, проте достатньо глибоке засвоєння цього поняття є, напевно, найскладнішим для студентів у курсі БМС.

При розгляді розповсюдження потенціалу дії виникає ще одна невідповідність між інтуїтивним сприйняттям та реальним станом справ. Для опису цього процесу використовується т.з. «кабельне» рівняння. Струм тече «по кабелю», потенціал дії – також «біжить» по ньому, аналогія, нібито, очевидна. Проте розповсюдження потенціалу дії по аксону принципово відрізняється від електричного струму по дротам, а порівняння

нервової системи з електричною мережею, яке можна часто зустріти у популярних виданнях, є лише не зовсім вдалою метафорою.

Основним інструментом для описання активації та блокування іонних каналів та рецепторів є рівняння хімічної кінетики, адже струм через мембрану визначається кількістю (частці) відкритих каналів, а це, в свою чергу, еквівалентно концентрації білкових молекул, що утворюють канал, зв'язаних з молекулою блокатора. При вивченні цього розділу курсу важливо розуміти (та не плутати) значення парних термінів «потенціал-керований канал» та «ліганд-керований канал», «іонотропний рецептор» та «метаботропний рецептор».

Дослідження такої складної системи як нервова клітина неможливе без використання моделей (еквівалентна електрична модель мембрани, кінетична модель полегшеної дифузії тощо), розрахунки за якими достатньо точно описують клітинні процеси. Проте при вивченні курсу БМС такі розрахунки для студентів мають дещо абстрактний характер, тому важливим є розв'язування оціночних задач. Формулювання таких задач та відповідні обчислення можуть бути зовсім простими (наприклад, оцінити кількість натрієвих каналів на мембрані нейрона) або дещо складнішими (оцінити при якій частоті та тривалості імпульсації навколо нейрона істотно зміниться концентрація іонів калію), але їх розв'язування допомагає «відчути» характерні значення величин та навчитись ними оперувати. Студенти можуть самі складати такі задачі на теми своєї магістерської роботи або відповідної наукової літератури.

Зрозуміло, що ці рекомендації не охоплюють усі теми та розділи курсу, проте глибоке розуміння описаних тут питань є необхідною умовою для засвоєння матеріалу курсу БМС.